

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE
FACULTAD DEL DEPORTE
DEPARTAMENTO DE DEPORTE E INFORMÁTICA
DOCTORADO EN ALTO RENDIMIENTO DEPORTIVO



**ESTADO OXIDANTE/ANTIOXIDANTE EN PACIENTES OBESAS ANTES
Y DESPUÉS DE UNA DIETA Y EJERCICIO: CAMBIOS
ESTRUCTURALES DE LA INSULINA EXPUESTA A SANGRE DE
PACIENTES OBESAS**

PRESENTA

LILIANA GUTIÉRREZ LÓPEZ

SEVILLA, ESPAÑA, ENERO DE 2012

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE-UPO

**DEPARTAMENTO DE DEPORTE E INFORMÁTICA
DOCTORADO EN ALTO RENDIMIENTO DEPORTIVO**

*ESTADO OXIDANTE/ANTIOXIDANTE EN PACIENTES OBESAS ANTES Y DESPUÉS
DE UNA DIETA Y EJERCICIO, CAMBIOS ESTRUCTURALES DE LA INSULINA
EXPUESTA A SANGRE DE PACIENTES OBESAS*

**Trabajo de investigación realizado por Liliana
Gutiérrez López para la obtención del Título de
Doctora en Alto Rendimiento Deportivo.**

Bajo la dirección de:

Dra. Ivonne María Olivares Corichi

Dr. Eleazar Lara Padilla.

Tutor: Prof. Dr. Francisco José Berral de la Rosa

AGRADECIMIENTOS

*Este proyecto de Investigación se realizó en el Laboratorio de Bioquímica Inorgánica de la Sección de Posgrado e Investigación de la **Escuela Superior de Medicina (ESM) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) México.***

Con el apoyo de los proyectos registrados con los números 20080303, 20090030, 20100270, en esta misma Institución (IPN) y CONACyT 157739.

AGRADECIMIENTOS

A LA MEDICINA

Que es Ciencia y Arte. La ética médica implica docencia, practica médica e investigación y no hay nada que me inspire más que esto.

A LA DRA IVONNE OLIVARES, AL DR RUBEN GARCIA, AL DR ELEAZAR LARA Y DR FRANCISCO BERRAL DE LA ROSA.

Por mostrarme un camino de nuevas experiencias y conocimientos, gracias por enseñarme que todos somos diferentes, pero esas diferencias hacen fuerte a un grupo y el trabajo en equipo es lo más importante, en la superación profesional.

A MI FAMILIA

A mi tita Ana mi guía y mi Papote Porfirio por enseñarme la vida y la fortaleza que solo tiene un hombre para siempre salir adelante a pesar de la adversidad. Tania, Jannie, Chucho, por estar en mi vida y quedarse para siempre en mi corazón, a mi Dany y Beto por su cariño, a Angelica y Antonio por siempre creer en mi, a mis Tíos Antonia, Sergio y a mi madre Ángeles por su confianza.

A mi loki por ser mi pequeño incondicional, a mi peluche, kira, peke, por su alegría.

A chivigon y fiona.

A mi padre Luis (†) mi ángel Nallelit (†) bisabuela Juana (†) gigi (†) ulises, rosito ratita (†) y a todos los que no puedo nombrar, siempre vivirán en mí.

A KARLOS

Por estar siempre a mi lado y compartir mis sueños, tu tiempo y la vida conmigo y mostrarme que cuando la vida es un campo de batalla tu mente es tu mejor arma.

A MARIA DE JESUS, NORMA ANGELICA, BRENDA

Por todo su apoyo y enseñanza por su ayuda, por siempre estar conmigo en todo momento

¡Si algo puede ser imaginado puede ser realizado!

Nicola Tesla

A MEDICINA DEL DEPORTE

A todos sus integrantes por su apoyo para que pudiera dedicarle tiempo a este proyecto.

A LAS PACIENTES

A todas las pacientes que participaron en el protocolo por su constancia y confianza.

A LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION

A todos los animales que han dado su vida en los proyectos de investigación

1. INDICE GENERAL

	<i>Página</i>
LISTA DE ABREVIATURAS	8
LISTA DE TABLAS	12
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE GRÁFICOS	14
LISTA DE ANEXOS	15
CAPITULO 1	
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
I. INTRODUCCIÓN	19
I.1. Obesidad	17
I.1.a. Epidemiología de la obesidad	19
I.1.b. Definición y clasificación	20
I.1.c. Lineamientos del tratamiento en la obesidad	20
I.1.d. Costos de la obesidad y enfermedades relacionadas	27
I.1.e. Causas de la Obesidad	28
<i>Condiciones genéticas</i>	28
<i>Malos hábitos alimenticios</i>	29
<i>Inactividad física o sedentarismo</i>	30
I.2. Consecuencias de la Obesidad	32
I.2.a. La obesidad como inflamación	34
I.2.b. Resistencia a la insulina	36
I.2.c. Estrés Oxidativo	38
I.3. Estrés oxidativo y Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno	39
1.3.a Radicales libres	39
<i>Anión superóxido</i>	39
<i>Peróxido de Hidrógeno</i>	40
<i>Radical hidroxilo</i>	41
<i>Singulete de Oxígeno</i>	43
<i>Especies reactivas de Nitrógeno (ERN)</i>	43
I.3.b. Defensas antioxidantes	43
<i>Enzimáticos</i>	43
<i>No enzimáticos</i>	46
I.4. Relación de la Obesidad con el Estrés oxidativo	48
I.4.a. Inflamación, resistencia a la insulina y estrés oxidativo	55
I.5. Intervenciones para disminuir el Estrés Oxidativo en la Obesidad	66
I.5.a. Antioxidantes	66
I.5.b. Ejercicio	67
<i>Actividad física y Estrés oxidativo</i>	69
I.5.c. Alimentación	73
I.6. Antecedentes inmediatos a este trabajo	83
CAPITULO 2	
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	87
III. OBJETIVO E HIPÓTESIS	88

CAPITULO 3	
IV. JUSTIFICACIÓN	90
CAPITULO 4	
V. MATERIAL Y MÉTODOS	92
V.1. Tipo de estudio	92
V.2. Conformación de los grupos	93
V.3. Parámetros antropométricos	94
V.4.Tratamientos	97
V.4.a. Dieta	97
V.4.b. Ejercicio	97
VI.5. Obtención y procesamiento de las muestras	98
VI.5.a. Técnicas utilizadas para el primer objetivo	100
VI.5.b. Técnicas utilizadas para el segundo objetivo	103
VII.6. Captura y procesamiento estadístico de datos	107
VII.6a Índices de calidad	109
CAPITULO 5	
VIII. RESULTADOS	123
VIII.1. Resultados del objetivo 1	123
VIII.2. Resultados del objetivo 2	125
CAPITULO 6	
IX. DISCUSIÓN	135
CAPITULO 7	
X. CONCLUSIONES	141
XI. PERSPECTIVAS	143
CAPITULO 8	
XII. BIBLIOGRAFIA	145
CAPITULO 9	
XIII.ANEXOS	162

LISTA DE ABREVIATURAS

Radical hidroxilo.....	$\cdot\text{OH}$
Singulete de oxígeno.....	$^1\text{O}_2^*$
Ácido desoxirribonucleico.....	ADN
Ácidos grasos libres.....	AGL
Productos avanzados de glicación	AGESs
Análisis de varianza.....	ANOVA
Adenosin trifosfato.....	ATP
Adenosin difosfato.....	ADP
Arginina.....	Arg
Catalasa.....	CAT
Triclorometilo.....	CCl_3
Cisteína.....	Cis
Carbohidrate respose element biding protein	ChREBP
Compuestos reactivos al acido tiobarbitúrico.....	CRAT
Cadena respiratoria mitocondrial.....	CRM
Superóxido dismutasa dependiente de zinc y cobre.....	CuZnSOD
Dieta.....	D
Dieta y ejercicio.....	DE
Distrito Federal.....	DF
Diabetes mellitus 2... ..	DM2
Acido desoxirribonucleico.....	DNA
2,4-dinitrofenilhidrazina.....	DNPH
3-4 Dinitrofenilalanina.....	DOPA
Ditirosina.....	DT
5,5-ditiobis-2 acido nitrobenzoico.....	DTNB
Extracelular.....	EC
Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.....	ENSANUT
Especies reactivas de oxígeno.....	ERO
Especies reactivas de nitrógeno.....	ERN

Frecuencia cardiaca.....	FC
Frecuencia cardiaca ideal.....	FCI
Factor de necrosis tumoral alfa.....	FNTα
Factor de necrosis tumoral Kapa B.....	FNT-$\kappa\beta$
Receptores transportadores de glucosa.....	GLUT
Glutación peroxidasa.....	GSH-Px
Glutation peroxidasa citosolica.....	cGSH-Px
Glutación plasmática	pGSH
Glutación gastrointestinal.....	gGSH
Glutación reducido.....	GSH
Glutación oxidado.....	GSSG
Peróxido de hidrógeno.....	H₂O₂
Agua.....	H₂O
Histidina.....	His
4-hidroxi-2-nonenal.....	HNE
Ácido hipobromoso.....	HOBr
Ácido hipocloroso.....	HOCl
Inmunoglobulina G.....	IgG
Instituto Mexicano del Seguro Social.....	IMSS
Asociación internacional Para el Estudio de la Obesidad.....	IASO
Interleucina 1.....	IL-1
Interleucina 6.....	IL-6
Índice de masa corporal.....	IMC
Cinasa jun amino terminal.....	JNK
Kilodalton.....	kDa
Lipoproteína de baja densidad.....	LDL
Lipoproteína de baja densidad oxidada.....	LDLox
Leucina.....	Leu
Lisina.....	Lis
Radical alcoxilo.....	LO\cdot
Radical peroxilo.....	LOO\cdot

Hormona α estimulante de melanocitos.....	αMSH
Malondialdehído.....	MDA
Metionina.....	Met
Equivalentes metabólicos.....	METs
Miligramos.....	Mg
Microlitros.....	μL
Nicotinamida adenina dinucleótido.....	NAD
Nicotín adenín dinucleótido reducido.....	NADH
Nicotín adenín dinucleótido fosfato reducido.....	NADPH
Nitroazul de tetrazolium	NBT
Factor nuclear kB.....	NF-kB
Nanómetros.....	Nm
Nanomoles.....	nmol
Neuropéptido Y.....	NPY
Norma Oficial Mexicana 174.....	NOM-174
Óxido nítrico.....	NO\cdot
Dióxido de nitrógeno.....	NO$_2$
Oxígeno molecular.....	O$_2$
Anión superóxido.....	O$_2\cdot$
Ozono.....	O$_3$
Peroxinitrito.....	ONOO-
Organización Mundial de la Salud.....	OMS
Poliacrilamida gel electroforesis.....	PAGE
Peso Molecular.....	PM
Protein cinasa C isoforma θ	PKC-θ
Prolina.....	Pro
Photon technology international.....	PTI
Proteína C reactiva.....	PCR
Cinasa de forfoinositol trifosfato.....	P13-K
Kilodaltones.....	KDa
Retículo endoplasmático.....	RE

Radio inmuno análisis.....	RIA
Resistencia a la insulina.....	RI
Radical libre.....	RL
Radicales libres.....	RLs
Revoluciones por minuto.....	Rpm
Radical tiilo.....	S'
Secretaría de Educación Pública.....	SEP
Grupo sulfidrilo.....	-SH
Superóxido dismutasa.....	SOD
Sustrato del receptor de la insulina.....	SRI-1
Tejido adiposo blanco.....	TAB
Tasa metabólica basal.....	TMB
2-nitro-5-tiobenzoato.....	TNB
Tejido adiposo visceral	TAV
Tirosina.....	Tir
Treonina.....	Tre
α -T tocoferilo.....	α-T' t
Triptófano.....	Trp
Proteína desacoplante 2.....	UCP-2
Valina.....	Val
Consumo máximo de oxígeno.....	VO₂max
Xantino oxidasa.....	XO

INDICE DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1. Patrones de actividad física en mexicanos.	31
Tabla 2. Alteraciones asociadas a la obesidad	33
Tabla 3. Riesgo relativo de presentar co-morbilidades mayores que Confieren el exceso de peso y la distribución del tejido Adiposo.	34
Tabla 4. Vida media de algunos radicales libres y especies reactivas del oxígeno	42
Tabla 5. Micronutrientes antioxidantes	78
Tabla 6. Distribución porcentual de energía y nutrientes en la planificación de una alimentación hipocalórica	79
Tabla 7. Tamaño de la muestra por grupo en un estudio comparativo de dos promedios.	94
Tabla 8. Parámetros antropométricos	122
Tabla 9. Marcadores de estrés oxidativo en plasma de los grupos	123
Tabla 10. Variables antropométricas.	127
Tabla 11. Variables bioquímicas clínicas glucosa basal y después de las intervenciones terapéuticas.	128
Tabla 12. Valores correspondientes a MDA, ditirosinas, carbonilos y grupos SH antes y después del tratamiento los resultados se presentan como promedio \pm DE.	128
Tabla 13. Valores correspondientes de carbonilos en insulina antes y después del tratamiento los resultados se presentan como promedio \pm DE.	129

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Potenciales mecanismos por los que la obesidad promueve un estado inflamatorio crónico que contribuye al desarrollo de insulino-resistencia, diabetes tipo 2 y complicaciones vasculares	56
Figura 2. Estructura de la insulina	59
Figura 3. Receptor de la hormona insulina	60
Figura 4. Plano de Frankfort.	95
Figura 5. Pulsometro	98
Figura 6. Laboratorio de Bioquímica Inorganica	99
Figura 7. Laboratorio de Bioquímica Inorganica y material	99
Figura 8. Determinación de grupos carbonilo	100
Figura 9. Espectrofotometro	102
Figura 10. Determinación de grupos tiol grupos SH totales	103
Figura 11. Gel de acrilamina	104
Figura 12. Electroforesis no desnaturalizante	106
Figura 13. Gel posterior a la tincion de coumasi	106
Figura 14. Patrón electroforético de insulinas oxidadas	126
Figura 15. Patrón electroforético de insulinas oxidadas, antes y después del tratamiento con dieta	131
Figura 16. Patrón electroforético de insulinas oxidadas, antes y después del tratamiento con dieta y ejercicio.	132

INDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. Cambio en el consumo de alimentos.	29
Gráfico 2. Grupos carbonilo y formazan de la insulina.	125
Gráfico 3. Carbonilos y formazán en insulinas expuestas a sangre de obesas en los diferentes grupos antes y después de las intervenciones terapéuticas.	130

INDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO I: Registro del proyecto de investigación.	161
ANEXO II: Carta de consentimiento informado.	168
ANEXO III: Historia clínico nutricional, historia clínica de obesidad y seguimiento de las pacientes.	174
ANEXO IV: Manejo nutricional de las pacientes	203
ANEXO V: Cuaderno de equivalentes	284
ANEXO VI: Determinación de proteínas.	216
ANEXO VII: Determinación de malondialdehído (MDA).	217
ANEXO VIII: Determinación de grupos carbonilo.	218
ANEXO IX: Cuantificación de ditirosinas.	219
ANEXO X: Determinación de grupos tiol totales (SH).	220
ANEXO XI: Gel de electroforesis al 15%.	221
ANEXO XII: Valores y datos del grupo control.	222
ANEXO XIII: Valores y datos iniciales del grupo de dieta.	223
ANEXO XIV: Valores y datos finales del grupo de dieta.	224
ANEXO XV: Valores y datos iniciales del grupo de dieta más ejercicio.	225
ANEXO XVI: Valores y datos finales del grupo de dieta más ejercicio.	226
ANEXO XVII: Congresos	227
ANEXO XVII: Artículos	253

RESUMEN:

Estado Oxidante/Antioxidante en pacientes obesas antes y después de dieta hipocalórica y ejercicio moderado. Cambios estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes obesas.

Introducción: Varios estudios han mostrado que la dieta y el ejercicio son importantes en el tratamiento de la obesidad. De hecho, el estado de estrés oxidativo del paciente obeso mejora después del ejercicio de moderada intensidad; lo cual pone de manifiesto la importancia de ambos para disminuir los efectos adversos del estrés oxidativo durante el tratamiento de la obesidad. El objetivo de este trabajo fue determinar si el tratamiento con dieta hipocalórica combinado con ejercicio aeróbico regular de moderada intensidad tiene un efecto benéfico sobre el estrés oxidativo y el daño molecular en el paciente obeso.

Material y métodos: Se determinó el estado del estrés oxidativo de 16 mujeres con normopeso (CT) y 32 mujeres obesas grado I (OBI) por medio del análisis de biomarcadores de estrés oxidativo en el plasma. Se incubó insulina recombinante humana con sangre de CT y OBI y se analizó el daño molecular a la hormona. Se formaron dos grupos de estudio, uno con dieta hipocalórica (D) (n=16), y otro con dieta hipocalórica más ejercicio aeróbico moderado (DE) (n=16). Ambos tratamientos se dieron durante tres meses y antes y después de las intervenciones se analizaron los efectos sobre parámetros antropométricos, estado de estrés oxidativo y daño molecular.

Resultados: En el estado basal, los datos obtenidos mostraron la presencia de estrés oxidativo sistémico en los obesos OBI. Además se observó daño molecular y polimerización de la insulina después de su incubación con la sangre de estos sujetos OBI. Ambos tratamientos, dieta hipocalórica con y sin ejercicio, disminuyeron los parámetros antropométricos, el estrés oxidativo sistémico y el daño molecular generado por la sangre. Sin embargo, el tratamiento de dieta más ejercicio provocó mayor efecto benéfico sobre el estrés oxidativo, disminuyendo más el daño molecular en los pacientes OBI.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que la combinación de dieta hipocalórica y ejercicio regular de moderada intensidad es más eficaz que la dieta hipocalórica sola para disminuir los niveles de estrés oxidativo y daño molecular a la insulina en pacientes con obesidad grado I.

ABSTRACT:**Oxidant / Antioxidant state in obese patients before and after hypocaloric diet and moderate exercise: Structural changes in insulin exposed to blood of obese patients**

Several studies have shown that diet and exercise are important to treat obesity. In fact, it has shown that oxidative stress status of the obese patient enhances after moderate exercise and highlights the importance of their use to reduce the adverse effects of oxidative stress during the treatment of obesity. The aim of this work was to determine the beneficial effect of hypocaloric diet with regular moderate aerobic exercise on oxidative stress and molecular damage in obese patients.

Material and methods: Oxidative stress status of 16 normal weight (NW) and 32 grade I obese women (OB1) was established by analysis of biomarkers of oxidative stress in plasma. Recombinant human insulin was incubated with CT and OBI blood and molecular damage to the hormone was analyzed. There were two groups, the first one with hypocaloric diet (HD) (n = 16) and the second one with hypocaloric diet and moderate aerobic exercise (HDMAE) (n = 16). At the beginning and the end of treatment (three months) the effects on anthropometric parameters, state of oxidative stress and molecular damage were analyzed.

Results: After the treatment, the presence of systemic oxidative stress in the OBI subjects, as well as molecular damage and polymerization of the insulin (after incubation with blood) were detected. Both treatments, hypocaloric diet with and without exercise, diminished the anthropometric parameters, systemic oxidative stress and molecular damage provoked by the blood. Nevertheless the addition of moderated aerobic exercise to hypocaloric diet (HDMAE) increased significantly the benefic effect on oxidative stress, decreasing significantly the molecular damage.

Conclusions: The results of this study demonstrate that the treatment with hypocaloric diet with regular moderate exercise is better than just hypocaloric diet in order to decrease the levels of systemic oxidative stress and insulin molecular damage in obese I subjects.

1. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCION

I.1. Obesidad

I.1a. Epidemiología de la Obesidad

En el mundo se estiman al menos 300 millones de adultos con obesidad ⁽¹⁾ La prevalencia de la obesidad se ha incrementado en México alrededor de 167% en los últimos 11 años ⁽²⁾.

México es un país que está experimentando una transición epidemiológica y nutricional que se ve reflejada por una disminución lenta de los problemas asociados con el subdesarrollo como las infecciones y la desnutrición, al tiempo que han aumentado dramáticamente las prevalencias de obesidad, diabetes y otras enfermedades crónicas no transmisibles asociadas con la dieta y los estilos de vida ⁽³⁾.

Por otra parte, se reconoce fácilmente que el crecimiento del desarrollo económico de un país ocasiona un incremento importante de la frecuencia de casos de sobrepeso y obesidad. En nuestro medio, el sobrepeso y la obesidad se han elevado en forma dramática, afectando aproximadamente al 70% de la población adulta en nuestro país. Además, se ha observado una alta prevalencia en niños y adolescentes ⁽³⁾.

La mayor parte de los estudios epidemiológicos poblacionales observan que la mortalidad empieza aumentar cuando el IMC supera los 25 kg/m². Las personas con un IMC superior o igual a 30 kg/m² presentan un incremento de aproximadamente entre el 50 y el 100% del riesgo de la mortalidad total como de la debida a enfermedades cardiovasculares respecto a la población con un IMC de 20 a 25 kg/m².

En los últimos datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT)⁽⁴⁾. Se reportó que alrededor de 30% de la población mayor de 20 años (mujeres, 34.5 %, hombres, 24.2%) tiene obesidad.

Según la Encuesta Nacional de Nutrición el 52% de la población de mujeres en México en edad reproductiva tiene algún grado de sobrepeso u obesidad. Por lo tanto únicamente el 35.8% de los adultos tiene un peso considerado normal.

I.1.b. Definición y clasificación

La obesidad es una enfermedad metabólica crónica multifactorial influida por aspectos genéticos, fisiológicos, metabólicos, celulares, moleculares, sociales y culturales la cual es caracterizada por el aumento generalizado del tejido adiposo^(5,6), que puede estar asociada con resistencia a la insulina⁽⁷⁾ y la hiperinsulinemia⁽⁸⁾. De acuerdo con el criterio de la organización mundial de la salud, la persona obesa es aquella con índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 30 kg/m². Un peso saludable por estatura es cuando el IMC es de 18.5 a 24.9, sobre peso de 25 a 29.9, obesidad grado I de 30 a 34.9, obesidad grado II 35 a 39.9 y obesidad grado III u obesidad mórbida más de 40 de IMC. Sin embargo según la Norma Oficial Mexicana para el Manejo y Control de la obesidad NOM-174 un adulto es obeso cuando tiene un índice de masa corporal mayor de 27 y en población de talla baja (IMC) mayor de 25 (talla baja es 1.50 para mujeres y 1.60 para varones).

I.1.c. Lineamientos del tratamiento en la obesidad

Cuando se habla de tratamiento en la obesidad debemos tomar en consideración los lineamientos de la “Norma Oficial Mexicana Para el Tratamiento Integral del Sobrepeso y la Obesidad” NOM-008-SSA3-2010. En base a esta norma el tratamiento de la obesidad debe ser integral, definiremos como tratamiento integral al conjunto de acciones que se realizan a partir del estudio completo y sobre todo individualizado del paciente con obesidad, que incluye tratamiento médico, nutrición, psicológico, régimen de actividad física y ejercicio; o en su caso quirúrgico, orientado sobre todo a lograr un cambio en el estilo de vida y a disminuir o erradicar los riesgos a la salud, corregir las comorbilidades y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Según lo refiere esta norma todas las acciones terapéuticas se deben apoyar en medidas psicoconductuales

y nutriólogicas para modificar conductas alimentarias nocivas para la salud, así se debe incluir un programa individualizado de actividad física y ejercicio de acuerdo a la condición clínica y física de cada paciente, además en las acciones terapéuticas deben incluirse los lineamientos de la “Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus en la atención primaria” NOM-015-SSA2-1994. Esta norma es esencial para unificar los procedimientos y criterios en la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus para proteger a los individuos de los riesgos derivados de las malas conductas alimentarias en la prevención y control de este padecimiento incluyendo a la obesidad.

También hay que considerar a la “Norma Oficial Mexicana para la Prevención, Detección Diagnóstico, Tratamiento y Control de la Hipertensión Arterial Sistémica” NOM-030-SSA2-2009. Esta Norma tiene por objetivo establecer todos los procedimientos para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y seguimiento del paciente para el control de la hipertensión arterial sistémica y con ello evitar sus complicaciones a largo plazo. Otra Norma más que hay que considerar para el tratamiento integral del paciente obeso, es la “Norma Oficial Mexicana del Expediente Clínico” NOM-168-SSA1-1998, que establece los criterios científicos, tecnológicos y administrativos obligatorios en la elaboración, integración, uso y archivo del expediente clínico. Otra Norma más que debe considerarse para el manejo de este tipo de pacientes es la “Norma Oficial Mexicana de la Infraestructura y el Equipamiento” NOM-178-SSA1-1998 que establece los requisitos mínimos de infraestructura y equipamiento de establecimientos para la atención médica de pacientes ambulatorios.

En base a estos lineamientos establecidos en cada una de las normas oficiales que se citaron con anterioridad, cuando hablamos de dieta-terapia, psicoterapia, farmacoterapia y el tratamiento médico quirúrgico, deberá realizarse tomando en cuenta las consideraciones generales y específicas según lo establecido en la Norma oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010.

Consideraciones generales NOM-008-SSA3-2010.:

El tratamiento siempre debe ajustarse a los principios científicos y éticos que orientan la práctica médica, todas las estrategia utilizadas en la terapéutica deberán tener un respaldo científico, pues el médico es el responsable del tratamiento integral del paciente con obesidad, el licenciado en nutrición y el psicólogo solo tienen injerencia del tratamiento en sus respectivas áreas de su competencia profesional.

El tratamiento médico en un paciente con obesidad deberá tener el menor riesgo con relación al beneficio esperado, y siempre deberá evaluar las distintas alternativas de tratamiento disponible, conforme a las necesidades específicas del paciente, una vez indicado el tratamiento por el médico siempre se deberá obtener una carta de consentimiento informado del interesado, familiar o tutor o su representante legal, de conformidad según lo que establece la NOM-168-SSA1-1998. Además todo tratamiento deberá prescribirse previa evaluación del estado de nutrición, con base a los indicadores clínicos, dietéticos, bioquímicos y antropométricos que incluyan: Índice de masa corporal (IMC) y perímetro de cintura y cadera.

Consideraciones específicas e intervenciones de los profesionales en el tratamiento de la obesidad NOM-008-SSA3-2010

La participación del personal no médico, técnico y auxiliar en el tratamiento integral de la obesidad, será exclusivamente en apoyo a los profesionales de las áreas de medicina, nutrición y psicología, por lo que no podrá actuar de manera independiente, y no le permite ni prescribir, realizar o proporcionar, por sí, tratamiento alguno.

El médico es el único profesional de la salud que puede prescribir medicamentos en los casos que así se requiera.

Cuando exista evidencia de falta de respuesta al tratamiento dietoterapéutico, a la prescripción de actividad física y ejercicio en un periodo de al menos tres meses en pacientes con IMC de 30 kg/m² o más, con o sin comorbilidades o en pacientes con

IMC superior a 27 kg/m² con una o más comorbilidades, se podrán prescribir medicamentos para el tratamiento de la obesidad.

Siempre que se utilicen medicamentos en el tratamiento de la obesidad el medicamento utilizado deberá estar justificado bajo criterio médico, de manera individualizada; El médico tratante siempre debe informar y explicar al paciente, las características del medicamento que le fue prescrito, nombre comercial y genérico, dosificación, duración del tratamiento, interacción con otros medicamentos

En cuanto al tratamiento quirúrgico, estará indicado en los individuos adultos con IMC mayor o igual a 40 kg/m² o mayor o igual a 35 kg/m² asociados a comorbilidad, cuyo origen en ambos casos no sea puramente de tipo endócrino. Deberá existir el antecedente de tratamiento médico integral reciente.

Además de lo anterior, en el caso de las personas de 16 a 18 años, se podrá realizar tratamiento quirúrgico exclusivamente en aquellas que hayan concluido su desarrollo físico, psicológico y sexual, en establecimientos de atención médica de alta especialidad, como parte de protocolos de investigación, revisados y aprobados por una Comisión de Ética, bajo la atención de equipos multidisciplinarios y sólo si presentan comorbilidades importantes.

En el caso de lo que se mencionó anteriormente, la selección del tipo de técnica quirúrgica para el tratamiento de la obesidad, deberá estar basada y justificada en la evaluación de un equipo de salud multidisciplinario.

La indicación de tratamiento quirúrgico de la obesidad, deberá ser resultado de la evaluación de un equipo de salud multidisciplinario, conformado al menos por: cirujano, anestesiólogo, internista, licenciado en nutrición y psicólogo clínico; esta indicación deberá estar asentada en una nota médica, en el expediente clínico

Tratamiento endoscópico NOM-008-SSA3-2010.

El uso de procedimientos endoscópicos, estará indicado en pacientes con IMC mayor o igual a 40 kg/m² o mayor o igual a 35 kg/m² asociados a comorbilidad y en pacientes de alto riesgo que requieran una reducción de peso previa al tratamiento quirúrgico, así como en aquellos que se encuentren en un programa de manejo multidisciplinario y no acepten un tratamiento quirúrgico

Disposiciones comunes para el tratamiento quirúrgico o endoscópico.

Todo paciente con obesidad, candidato a cirugía o algún procedimiento endoscópico, no podrá ser intervenido quirúrgicamente sin antes haber sido estudiado en forma completa, con historia clínica, análisis de laboratorio y estudios de gabinete, valoración nutricional, cardiovascular, anestesiológica, psicológica, en su caso psiquiátrica y cualquier otra que resulte necesaria para complementar el estudio del paciente. En el manejo se deben consultar las Guías de Práctica Clínica: Tratamiento Quirúrgico del Paciente Adulto con Obesidad Mórbida y la de Tratamiento Quirúrgico del Adolescente con Obesidad Mórbida; El médico cirujano tendrá la obligación de informarle al paciente respecto de los procedimientos quirúrgicos o endoscópicos a realizar, sus ventajas, desventajas y riesgos a corto, mediano y largo plazo. El médico tratante deberá recabar la carta de consentimiento informado, en los términos que establece la NOM-168-SSA1-1998.

Las técnicas quirúrgicas utilizadas para el tratamiento de la obesidad, deben ser de tipo restrictivo, mal absorbente o mixto; deben ofrecer al paciente las mejores alternativas y beneficios para el manejo y control de la obesidad, así como su comorbilidad, con el menor riesgo posible en las etapas pre, trans y postquirúrgicas.

El médico tratante deberá comprometerse, en coordinación con el equipo multidisciplinario, a hacer seguimiento del paciente intervenido quirúrgicamente.

El tiempo, frecuencia y características del seguimiento, dependerán de la técnica quirúrgica utilizada y de la respuesta del paciente.

El médico tratante referirá al paciente al nutriólogo o psicólogo, cuando el caso lo requiera.

El médico tratante deberá informar y orientar al paciente sobre los beneficios que representa para la salud, el llevar una alimentación correcta, de acuerdo a lo establecido en la “Norma Oficial Mexicana de Servicios Básicos de salud Promoción y Educación para la Salud en Materia Alimentaria. Criterios para Brindar orientación” NOM-043-SSA2-2005. En base a esta Norma se debe incluir en el tratamiento integral del paciente con obesidad la orientación alimentaria, encaminada a proporcionar información básica, tendiente a desarrollar habilidades, actitudes y prácticas relacionadas con los alimentos y la orientación para favorecer la adopción de una dieta correcta a nivel individual, familiar y colectivo, tomando en cuenta las condiciones económicas, geográficas, culturales y sociales. Para entender más este concepto la palabra dieta la definiremos como el conjunto de alimentos y platillos que se consumen cada día, y constituye la unidad de la alimentación. Basándonos en esta definición llamamos alimentación correcta a la dieta que de acuerdo con los conocimientos reconocidos en la materia cumple con las necesidades específicas en las diferentes etapas de la vida, en el caso del adulto permite conservar o alcanzar el peso esperado para la talla y sus fines son preventivos. La alimentación correcta debe de cumplir con las siguientes características según la NOM-043-SSA2-2005:

- a) *Completa*- Que contenga todos los nutrimentos.
- b) *Equilibrada*-Que los nutrimentos guarden las proporciones apropiadas entre sí.
- c) *Inocua*-Que su consumo habitual no implique riesgos para la salud por que debe ser exenta de microorganismos patógenos, toxinas y contaminantes.
- d) *Suficiente*- Que esta cubra las necesidades de todos los nutrimentos, de tal manera que el sujeto adulto tenga una buena nutrición y un peso saludable.
- e) *Variada*- Que incluya diferentes alimentos de cada grupo en las comidas

- f) Adecuada que este acorde con los gustos y la cultura de quien la consume y ajustada a sus recursos económicos, sin que esto signifique que deba sacrificar sus otras características.

En el tratamiento integral de la obesidad se debe puntualizar sobre la alimentación adecuada como ya citamos en párrafos anteriores y según la NOM-008-SSA3-2010 y se deberá hacer énfasis sobre los riesgos que representan para la salud el sobrepeso y la obesidad, y educar al paciente en este aspecto, como ya hemos mencionado con anterioridad el manejo de la obesidad debe incluir el tratamiento nutricional pero también el tratamiento psicológico y debe considerarse cuáles son las intervenciones en estas áreas.

El tratamiento nutricional NOM-008-SSA3-2010

La participación del nutriólogo que es el encargado del tratamiento nutricional tienen las siguientes implicaciones:

Valoración nutricional: evaluación del estado nutricional debe ser mediante indicadores clínicos, dietéticos, antropométricos, bioquímicos y de estilo de vida.

Plan de cuidado nutricional: elaboración del plan alimentario, orientación alimentaria, asesoría nutricional y recomendaciones para el acondicionamiento físico y para los hábitos alimentarios y sobretodo el control: seguimiento de la evaluación, conducta alimentaria y reforzamiento de acciones.

La dieta deberá ser individualizada, atendiendo a las circunstancias específicas de cada paciente, es muy importante referir al paciente a tratamiento médico o psicológico, cuando el caso lo requiera.

El tratamiento psicológico NOM-008-SSA3-2010

La participación del psicólogo clínico comprende siempre la valoración y el apoyo psicológico para la modificación de hábitos y conductas alimentarias;

El tratamiento y el manejo de los problemas psicológicos, familiares y sociales del paciente con sobrepeso u obesidad, en esta área es importante y siempre dar referencia al nutriólogo, médico o psiquiatra, cuando el caso lo requiera.

I.1.d. Costos de la obesidad y las enfermedades relacionadas.

En México se puede estimar que el costo en la atención médica de la obesidad es de tres a cinco veces mayor que en el caso de los pacientes que se ubican dentro de un rango de peso normal ⁽⁹⁾.

Para ilustrar la importancia de prevenir esta patología que es considerada como un problema de salud pública, por que es un factor predisponente a diabetes mellitus y la hipertensión arterial, que son las enfermedades con más alto porcentaje de incidencia en México ⁽¹⁰⁾. Es conveniente mencionar que el tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 y de la hipertensión arterial, es de por vida, al igual que su costo. El costo exclusivo de los medicamentos para el control de la hipertensión arterial y de la diabetes es considerable y varía de acuerdo con los fármacos indicados por los médicos. Lo anterior sin contar con las complicaciones que pueden presentarse por la descompensación de cualquiera de estas dos enfermedades crónicas, situación en la que los costos se elevan de una forma exorbitante y la calidad de vida se afecta en forma considerable.

Por ejemplo, el costo médico directo anual promedio en México de un diabético tipo 2, controlado con dieta, con IMC de 30 kg/m², sin complicaciones microvasculares, neuropáticas, o cardiovasculares es de \$118,915.68 dolares. El costo total anual para el

sistema de salud es de \$439,719.28 pesos según el estudio de costos económicos de la obesidad y sus patologías asociadas ⁽¹¹⁾.

En los eventos vasculares cerebrales (EVC's) recurrentes atendidos en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), los costos anuales fueron de \$532,601.16, \$898,201.2 y \$1,582,351.16 dolares para personas entre 35 a 74 años, 75 a 84 años y de 85 años en adelante, respectivamente.

En el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, el día/cama/hospital es de aproximadamente \$14,950 dolares y el de terapia intensiva es de \$390,000 dolares al día.

En España, los datos del estudio prospectivo Delphi ⁽¹²⁾ cifran el costo económico de la obesidad en un 6,9% del gasto sanitario (341,000 millones de euros anuales).

En los Estados Unidos, el costo del tratamiento del 50% al 80% de los casos de diabetes mellitus atribuibles a la obesidad se ha estimado en \$10,000 millones de dólares.

I.1.e Causas de la obesidad

Las causas de la obesidad son diversas entre ellas

- a) Condiciones genéticas.

La contribución ambiental al desarrollo de la obesidad es evidente, sin embargo el componente genético de la obesidad se ha identificado en numerosos estudios ^(13,14) Los resultados sugieren que aproximadamente el 50-70% de variación en el índice de masa corporal es atribuible a diferencias genéticas ⁽¹⁵⁾, y la identificación de determinados genes que regulan la proliferación y diferenciación del tejido adiposo que pueden estar involucrados en el aumento de la adiposidad. Son múltiples los genes estudiados, por citar un ejemplo el gen OB humano que se localiza en el cromosoma 7 y su relación con la leptina.

b) Malos hábitos alimenticios.

Se entiende por alimentación adecuada aquella que contribuye primordialmente a la salud de las personas que la consumen. Precisamente este valor esencial de la dieta equilibrada cobra su pleno sentido cuando reparamos en lo que actualmente entendemos por salud, según la OMS, es el estado de bienestar físico mental y social no sólo la ausencia de enfermedad. La alimentación es uno de los principales determinantes de la salud, del desempeño físico, mental y de la productividad. La obesidad es frecuentemente consecuencia de la ingestión de dietas con alta densidad energética y bajas en fibra, y de bebidas azucaradas, en combinación con una escasa actividad física. La última encuesta nutricional (ENSANUT 2006) demostró que México tiene el primer lugar mundial en el consumo de refrescos y carbohidratos refinados. Además, según el análisis de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de Hogares ^(16,17), la alimentación, en este país muestra un detrimento en el consumo de frutas y vegetales (gráfico 1).

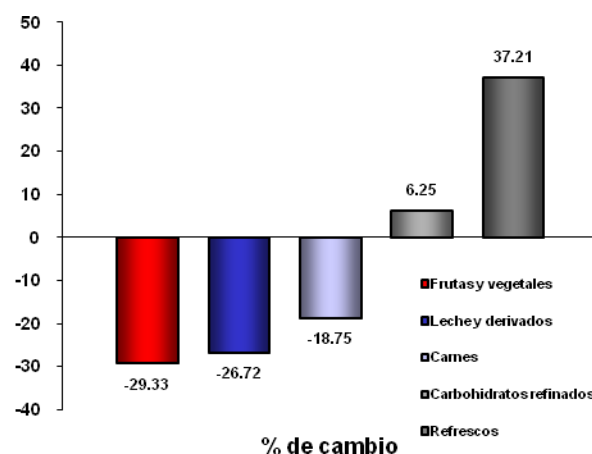


Gráfico 1. Cambios en el consumo de alimentos.

Rivera-Dommarco. Análisis de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gasto de Hogares (ENIGH) INEGI. Public Health Nutrition, 2002:5 (1a):113-122.

En la actualidad el cambio en los hábitos alimentarios, con fácil accesibilidad a alimentos apetitosos ricos en valor energético y en contenido graso (ENSANUT (2006) ha ido en incremento. En la Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición Metropolitana se encontró en la población un consumo muy bajo de fibra, 13.6g diarios, prácticamente

la mitad de lo recomendado en una alimentación saludable. Esta deficiencia se asocia con el bajo consumo de frutas y verduras y alto consumo de refrescos. A dicha situación se agrega un aporte de lípidos del 35.5% del total de energía consumida, lo cual constituye un importante factor de riesgo para la salud ⁽¹⁸⁾.

c) La inactividad física o sedentarismo.

La actividad física, debe ser todo un proceso sistematizado que permita conservar la salud y alcanzar mejores niveles de calidad de vida. El sedentarismo es un fenómeno característico del estilo de vida de las naciones industrializadas o en vías de desarrollo. Se puede definir como sedentario a un individuo que gasta menos del 10% de su consumo calórico total en actividad física o bien se puede considerar como sedentario a un individuo que realiza menos de 10,000, pasos por día o bien que se encuentra más de 8 hrs sentado, semisedentario entre 4-8 hrs sentado, sedentario leve menos de 4 hrs sentado. Los medios de comunicación y la tecnología aplicada a la vida diaria, propician que los individuos realicen cada vez menos actividad física.

En la ENSANUT 2006 se muestra que en México la población es cada vez más sedentaria (tabla 1). El 80.4% de la población mayor de 30 años no realiza ejercicio ningún día a la semana, por lo que la actividad e inactividad física son los componentes más variables del gasto energético y están, hasta cierta medida, reguladas bajo control voluntario ⁽¹⁹⁾. La mayoría de los habitantes de los países de ingresos medios y altos realizan actividad moderada o vigorosa durante periodos muy breves en el día, debido a que tanto las actividades laborales, como el transporte y la recreación se han convertido en tareas con muy baja demanda energética. Un ejemplo es el cambio de los patrones de recreación que actualmente favorecen ver televisión o usar videojuegos, particularmente en niños y adolescentes ⁽²⁰⁾.

Tabla 1. Patrones de actividad física en mexicanos.

POBLACIÓN	PORCENTAJE	EJERCICIO DEPORTE
Mayores de 15 años	84.8 %	NO PRACTICAN
35 hasta 55 años	> 1.0%	PRACTICAN
Niños y jóvenes escolares	90%	NO REALIZAN

Fuente de Información, INEGI, 2006

Los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2006), indican además, que los adolescentes mexicanos realizan menos actividad física moderada y vigorosa que la deseable. A esto debe agregarse que más de la mitad de los adolescentes dedican un promedio de 4-6 horas al día frente a las pantallas del televisor, sin contar los videojuegos. Según Veerman JL y colaboradores mostro la relación que existe entre las horas frente al televisor y la esperanza de vida al nacer, los individuos que ven televisión en promedio 6hrs/día la esperanza de vida disminuye 4.8 años en promedio⁽²¹⁾. En este contexto, el sedentarismo va de la mano con la aparición de las enfermedades, inclusive desde la infancia⁽²²⁾. El estudio antes mencionado y otros más han documentado la asociación entre el tiempo de ver televisión y la obesidad^(23,24). Ver televisión durante muchas horas puede aumentar el riesgo de obesidad, tanto por la reducción en el gasto de energía como por cambios en la dieta. Como lo indica la Secretaria de Educación Pública (SEP)⁽²⁵⁾ en los últimos años la obesidad y el sobrepeso se han incrementado en la población de niños que cursan preescolar primaria y secundaria, con alarmante 57% en niñas y 77% en niños. Según el “Programa de Detección de Obesidad Infantil en el Distrito Federal (D.F.)” de la SEP, el 47% de los niños en el D.F. entre los 6 y 12 años de edad cursan con sobrepeso (23%) y obesidad (24.5%), de ellos el 10.6% fueron diagnosticados con hipertensión arterial. En la actualidad México tiene primer lugar a nivel mundial de obesidad infantil. Por otra parte, se ha demostrado que la obesidad en la infancia y en la adolescencia es un factor de riesgo y pronóstico de obesidad en la vida adulta con todas sus consecuencias, epidemiológicas y económicas.

I.2. Consecuencias de la Obesidad.

La obesidad es el factor de riesgo modificable más importante para el desarrollo de enfermedades crónicas, como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), donde la resistencia a la insulina es el eje central de esta patología. La obesidad también se asocia con la dislipidemia, la hipertensión, la enfermedad coronaria y cerebrovascular, la colelitiasis, la osteoartrosis, la insuficiencia cardíaca, el síndrome de apneas durante el sueño, algunos tipos de cáncer, alteraciones menstruales, la esterilidad y alteraciones psicológicas, otras alteraciones como microalbuminuria, hiperuricemia, hiperhomocisteinemia, esteatohepatitis no alcohólica, síndrome de apneas durante el sueño, síndrome de ovarios poliquísticos⁽²⁶⁾. Otras alteraciones ocasionadas por la obesidad se muestran en la tabla 2

Tabla 2. Alteraciones asociadas a la obesidad

Enfermedad Cardiovascular arteriosclerótica
Cardiopatía Isquémica
Enfermedad cerebrovascular
Otras alteraciones respiratorias
Insuficiencia cardiaca congestiva
Insuficiencia ventilatoria
Síndrome de apneas obstructivas durante el sueño
Alteraciones metabólicas
Resistencia a la insulina y Diabetes tipo 2
Hipertensión arteria
Dislipidemia aterogena
Hiperuricemia
Alteraciones de la mujer
Disfunción menstrual
Síndrome de ovarios poliquísticos
Infertilidad
Aumento del riesgo perinatal
Incontinencia urinaria
Digestivas
Colelitiasis
Esteatosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis
Reflujo gastroesofágico, hernia de hiato
Músculo esqueléticas
Artrosis
Lesiones articulares
Deformidades óseas
Otras alteraciones
Insuficiencia venosa periférica
Enfermedad tromboembólica
Cáncer: (mujer: vesícula y vías biliares, mama y endometrio en la posmenopausia, varón: colon recto y próstata)
Hipertensión endocraneal benigna
Alteraciones cutáneas (estrías, acantosis nigricans, hirsutismo, foliculitis, intertrigo)
Alteraciones psicológicas
Alteraciones psicosociales
Disminución en la calidad de la vida
Trastornos del comportamiento alimentario

Riesgo relativo de la obesidad

Es útil la determinación del grado de exceso de peso y de la distribución de la grasa en el organismo, a este patrón de distribución de la grasa se le puede denominar ginecoide o forma de pera y androide o forma de manzana ya que en el primero la

grasa se concentra más anivel de las caderas mientras que en el segundo se aloja mas en la cintura. Hay considerar especialmente la grasa visceral para evaluar el riesgo relativo de los individuos con obesidad, y todas las comorbilidades metabólicas y otras enfermedadesque se le asocian, como lo hemos mencionado con anterioridad (tabla 2). Para ello se cuenta con la valoración de la circunferencia de la cintura que es una metodología sencilla y eficaz para detectar factores de riesgo. En la Tabla 3 se clasifica el riesgo relativo en función del IMC y el perímetro de la cintura.

Tabla 3. Riesgo relativo de presentar comorbilidades mayores que confieren el exceso de peso y la distribución del tejido adiposo.

CLASIFICACION	IMC (Kg/m ²)	Riesgo relativo a partir del perímetro de la cintura	
		Varones ≥ 102 cm Mujeres ≥ 88 cm	Varones > 102 cm Mujeres > 88 cm
Peso normal	18.5-24.9	Ninguno	Ninguno
Sobrepeso	25.0-29.9	Ligeramente aumentado	Ligeramente aumentado
Obesidad	30.0-34.9, 35.0-39.0	Aumentado	Aumentado
Obesidad mórbida	≥40	Alto Muy alto	Alto Muy alto

IMC: Índice de masa corporal

I.2.a. La obesidad como inflamación

La inflamación es una reacción protectora del tejido conectivo vascular a los estímulos perjudiciales, incluyendo la infección. La inflamación se asocia con la vasodilatación, la permeabilidad vascular creciente, el reclutamiento de células inflamatorias (especialmente neutrófilos en la inflamación aguda) y producción de mediadores inflamatorios de estas células como las citocinas, principales responsables de las respuesta inflamatoria en la fase aguda. Al hablar específicamente de

inflamación crónica de baja intensidad, nos referimos a una reacción inflamatoria que dura varios días, semanas o meses, en respuesta a la presencia de agentes extraños en el torrente sanguíneo.

Se ha considerado a la obesidad como una patología inflamatoria crónica de bajo grado, caracterizada por una elevación de los niveles plasmáticos de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), la interleuquina 6 (IL-6) y proteínas reactantes de fase aguda tales como la proteína C reactiva (PCR)⁽²⁷⁾. Un hecho importante en el estado inflamatorio asociado con la obesidad es que parece estar predominantemente provocado, y residir en el tejido adiposo blanco (TAB), aunque otros órganos claves del metabolismo también puedan estar implicados en el curso de la inflamación.

El tejido adiposo y la inflamación

El tejido adiposo secreta y expresa algunas citoquinas inflamatorias (FNT- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-18). Así, la ingesta excesiva de nutrientes, y el estrés oxidativo pueden provocar un aumento en los niveles de secreción de estas citoquinas que conducen a la inflamación crónica en tejido adiposo blanco favoreciendo la activación e infiltración de macrófagos maduros. El incremento en la secreción de citoquinas como el FNT- α puede estimular a los preadipocitos y a las células endoteliales atrayendo a los macrófagos al tejido adiposo. Una vez infiltrados en el tejido adiposo, los macrófagos maduros comienzan a secretar citoquinas y quimioquinas tales como FNT- α , IL-1, IL-6. Este patrón de secreción, junto con el producido por adipocitos y otros tipos celulares, puede perpetuar un círculo vicioso de reclutamiento de macrófagos y producción de citoquinas inflamatorias, llevando a una inflamación primaria local en el tejido adiposo. Posteriormente, estas citoquinas secretadas por el tejido adiposo podrían desencadenar el aumento de la producción de proteínas inflamatorias en el hígado y conducir así a la inflamación sistémica de bajo grado observada en obesidad⁽²⁸⁾.

I.2.b. Resistencia a la insulina.

La resistencia a la insulina se define como la incapacidad genética o adquirida de los tejidos blanco de responder normalmente a la acción de la hormona circulante (insulina).

Existen varios posibles mecanismos de producción de resistencia a la insulina. Uno de ellos es la mutación del receptor de insulina, fenómeno que no se presenta con tanta incidencia y determina algunos síndromes específicos. Más frecuentes son los defectos de los transportadores de glucosa, como la disminución del GLUT 4, y las alteraciones de la fosforilación, que pueden ocurrir tanto en el receptor como en los sustratos intracelulares.

Podemos citar por ejemplo que la concentración de GLUT4 en el tejido adiposo de obesos con resistencia a la insulina esta disminuida, sin embargo en músculo esquelético es normal, se cree que estos efectos están mediados por el TNF- α , que disminuye la expresión de receptores GLUT4 en adipocitos in vitro ⁽²⁹⁾.

Cabe señalar que en el problema de la resistencia a la insulina se comprometen las vías metabólicas, no las vías mitogénicas. Actualmente se han descrito nuevos mecanismos que estarían participando en la resistencia a la insulina. Uno de ellos es la acción de algunos factores o moléculas que actuarían sobre la fosforilación del receptor de insulina, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que actuaría sobre la fosforilación de los receptores intracelulares, de tal manera que en vez defosforilarse el residuo tirosina, se fosforila un residuo serina.

Se ha demostrado que el TNF- α está aumentado en el suero de personas resistentes a la insulina, diabéticos tipo 2 o pacientes con obesidad sobre todo con los que tienen una obesidad de distribución androide, los que además tienen una mayor expresión del TNF- α en el tejido adiposo. Por otra parte, se ha descrito que algunos polimorfismos del TNF- α se asocian con una menor sensibilidad a la acción de la insulina.

Otro problema fisiopatológico del paciente insulinoresistente, que ocurre principalmente en los obesos, es el aumento del nivel de ácidos grasos libres provenientes de la lipólisis aumentada del tejido adiposo intraabdominal o visceral. Este aumento de los ácidos grasos produce resistencia a la acción de la insulina a nivel muscular, lo que se traduce en una disminución de la síntesis del glucógeno y, por otra parte, determina un aumento de la secreción de insulina en la célula beta como mecanismo compensatorio a la resistencia periférica.

Si esta situación se perpetúa en el tiempo, la gran resistencia que se produce en la periferia provoca la claudicación de la célula beta y aparece la intolerancia a la glucosa. Desde el punto de vista molecular, hay un aumento del malonil-CoA, que en condiciones fisiológicas aumenta como un mecanismo de defensa frente a situaciones de privación prolongada de nutrientes, con el fin de obtener energía a partir de la oxidación de los ácidos grasos libres y disminuir la oxidación de la glucosa, para preservar el aporte de ésta al sistema nervioso central.

Se ha observado que en los obesos ocurre este mismo mecanismo, aún en presencia de una ingesta adecuada de nutrientes, y que el aumento de malonil-CoA no se inhibe con los niveles de glucosa y de insulina aumentados, lo que finalmente perpetúa el aumento de los niveles de ácidos grasos libres.

Tejido adiposo y Resistencia a la Insulina

Anteriormente se consideraba al tejido adiposo como un órgano pasivo almacenador de energía. El adiposo presenta un gran número de receptores hormonales en su membrana nuclear y citoplasmática, siendo entonces un órgano endocrino con participación activa en la regulación metabólica. Las alteraciones funcionales del tejido adiposo, tanto la obesidad como la lipoatrofia y la lipodistrofia, se relacionan con la resistencia a la insulina. Los pacientes obesos presentan una concentración elevada de ácidos grasos libres (AGL), la resistencia a la acción antilipolítica de la insulina en el tejido adiposo produce una liberación excesiva de ácidos grasos libres y glicerol, el TNF- α aumenta la lipólisis en adipositos in vitro y aumenta la sensibilidad de lipasa sensible a hormonas. Los ácidos grasos libres aumentan la producción endógena de glucosa por que activan su formación. Además producen también resistencia hepática a la insulina.

I.2.c. Estrés Oxidativo

En condiciones fisiológicas siempre hay un balance entre la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la neutralización de las mismas, esto genera modificaciones mínimas en las biomoléculas, pero cuando se rompe el equilibrio por el incremento en la formación de oxidantes y se excede a los antioxidantes para eliminar ERO se presenta el estrés oxidativo ⁽³⁰⁾. El estrés oxidativo puede presentarse por una disminución en las concentraciones antioxidantes, un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), ó por ambos procesos al mismo tiempo debido a una deficiencia en la dieta de oligoelementos que sirven como cofactores de las enzimas antioxidantes como es el Zn^{2+} , el Mg^{2+} , el Fe^{2+} , el Cu^{2+} , y el Se ⁽³⁰⁾. Otro mecanismo es la activación excesiva de sistemas naturales productores de especies reactivas como lo es el caso de las enfermedades inflamatorias crónicas ⁽³¹⁾.

I.3. Estrés Oxidativo y Especies reactivas del oxígeno (ERO)

Las especies reactivas del oxígeno (ERO), incluyen a los Radicales Libres (RL) del oxígeno, y a las especies moleculares precursoras de los mismos. La mayoría de los RL de interés médico son los derivados del oxígeno; entre otros pueden mencionarse: el singulete de oxígeno ($^1\text{O}_2^*$), el radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), y el radical hidroxilo (HO^\bullet). Además el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que no es un radical libre, pero es el precursor del RL hidroxilo ⁽³²⁾. En el cuerpo humano los RL derivados del oxígeno son producidos normalmente; se calcula que del oxígeno respirado del 1 al 3% es usado para formar el radical $\text{O}_2^{\bullet-}$, tanto en la cadena de transporte de electrones dentro de la mitocondria como en el retículo endoplásmico.

1.3.a. Radicales Libres (RLs)

En los elementos y en las moléculas los electrones se encuentran pareados y cada electrón del par muestra una rotación o giro opuesto. Un RL es una especie química que contiene uno o más electrones no pareados ya sea por pérdida o ganancia de uno de ellos. La presencia de electrones no pareados modifica la reactividad química de un átomo o de una molécula y la hace generalmente más reactiva que su forma química de "no radical". La reactividad química de los diferentes tipos de radicales libres es muy variable ^(33,34).

Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

Anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

Cuando una molécula de oxígeno acepta un electrón, se convierte en un radical con carga negativa, o sea el anión superóxido. Parte de estos radicales se producen en el cuerpo humano los RL derivados del oxígeno son producidos normalmente. Se calcula que del oxígeno respirado del 1 al 3% es usado para formar el radical $\text{O}_2^{\bullet-}$, tanto

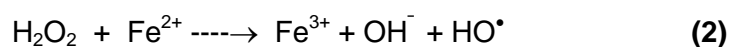
en la cadena de transporte de electrones dentro de la mitocondria como en el retículo endoplásmico. Estas reacciones son inevitables en un organismo dependiente de oxígeno⁽³⁴⁾. También se producen durante las reacciones de varias moléculas directamente con el oxígeno, por ejemplo: la adrenalina, la dopamina, el tetrahidrofolato, los citocromos, etc. El $O_2^{\bullet-}$ también es producido por las células del sistema inmune durante la descarga respiratoria de los procesos fagocíticos (neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos) como parte del mecanismo empleado para destruir organismos extraños, generalmente bacterias, a través de un complejo enzimático denominado NADPH oxidasa ⁽³⁵⁾. Este mecanismo es esencial durante la erradicación de las infecciones, aunque en ocasiones una activación excesiva de los fagocitos puede producir daño tisular, como sucede en la artritis reumatoide y en la colitis inflamatoria. Por otro lado, numerosas enzimas localizadas en el citosol, mitocondria y peroxisomas, así como en la membrana plasmática, generan RL durante su ciclo catalítico. La xantina oxidasa, genera $O_2^{\bullet-}$ al reducir O_2 a H_2O durante el catabolismo de las bases púricas ⁽³⁶⁾. La mayor parte del $O_2^{\bullet-}$ producido por la mitocondria proviene de la autooxidación de la coenzima Q semireducida (ubisemiquinona) en la cadena de transporte de electrones localizada en la membrana interna ⁽³⁷⁾.

Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

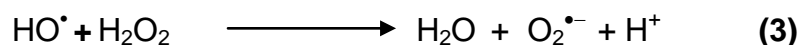
Estrictamente, el H_2O_2 no es un radical libre porque no posee electrones no apareados. La vida media del H_2O_2 depende de la presencia o ausencia de las enzimas encargadas de removerlo del medio como la Catalasa o la Glutación peroxidasa. Se forma por la dismutación del $O_2^{\bullet-}$ (1), reacción intracelular catalizada por la enzima Superóxido Dismutasa, o puede formarse también en medio acuoso, donde el $O_2^{\bullet-}$ se dismuta de manera espontánea generando H_2O_2 y oxígeno ⁽³⁸⁾.



El H_2O_2 es un agente que puede difundir a través de las membranas celulares al espacio extracelular, donde existen pocos mecanismos de defensa antioxidante y ahí puede participar en la formación del radical hidroxilo. A pesar de no ser en sí un radical, tiene una importancia vital, ya que en presencia de metales de transición como Cu^+ o Fe^{2+} da lugar a la reacción **Fenton**⁽³⁹⁾, con la producción del radical hidroxilo (HO^\bullet) (2).



Haber y Weiss⁽⁴⁰⁾ describen que el HO^\bullet en presencia de H_2O_2 forma $\text{O}_2^{\bullet-}$, y que este anión superóxido ante un exceso de peróxido de hidrógeno, da lugar a la generación de una cantidad adicional de radical hidroxilo según las siguientes reacciones: (3 y 4):



El conjunto de las reacciones descritas, constituye el ciclo de **Haber-Weiss**. La coexistencia del $\text{O}_2^{\bullet-}$ y del H_2O_2 , en un medio biológico que inevitablemente contiene hierro o cobre, es muy peligrosa, ya que el radical HO^\bullet formado, es un oxidante muy reactivo que interacciona con todas las biomoléculas, a velocidades sólo limitadas por su difusión⁽⁴¹⁾.

Radical hidroxilo (HO^\bullet)

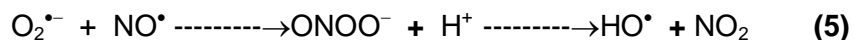
Tiene una vida media de 1×10^{-9} s (tabla 4), su radio promedio de acción es de 30 Å y puede generarse por la ruptura del enlace oxígeno-oxígeno del H_2O_2 . También se puede formar como ya se mencionó, al estar presentes el radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ y el H_2O_2 en un medio biológico que contiene hierro o cobre. El HO^\bullet puede interactuar a una velocidad muy alta con las moléculas biológicas: proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, formando entre otros productos, radicales libres de aquellas moléculas con las que reaccionó⁽⁴²⁾.

Tabla 4. Vida media de algunos radicales libres y especies reactivas del oxígeno

Radical	Vida Media
HO•	10 ⁻⁹
RO•	10 ⁻⁶
ROO•	7 segundos
L•	10 ⁻⁸ segundos
H ₂ O ₂	Estable reducción enzimática
O ₂ • ⁻	Dismutación espontánea y enzimática
Q•	Días
NO•	5.6 segundos

Este radical también se produce por las radiaciones electromagnéticas, ya sean naturales, como las radiaciones cósmicas o del gas radón, o bien de otras fuentes creadas por el hombre. Las radiaciones con baja longitud de onda (X, γ, etc) pueden romper el agua y generar radicales HO•.

Por otra parte, el O₂•⁻ puede reaccionar con el óxido nítrico (NO•) que es un RL libre con nitrógeno, generando el peroxinitrito (ONOO⁻) el cual, al hidrolizarse se escinde en una molécula de radical hidroxilo y una de bióxido de nitrógeno (5).



La importancia de este radical es que las células no cuentan con sistemas enzimáticos que puedan utilizar al radical hidroxilo como sustrato; más bien tienen mecanismos enzimáticos para prevenir su formación.

Singulete de oxígeno ($^1\text{O}^{2*}$)

Como el singulete de oxígeno ($^1\text{O}^{2*}$) no tiene electrones desapareados, no constituye realmente un radical libre de oxígeno, pero por su gran reactividad e intervención en muchas reacciones, en las que participan el oxígeno molecular, se incluye aquí. Se forma sobre todo, cuando algunos pigmentos biológicos se iluminan en presencia de oxígeno, por ejemplo clorofila retinal, flavinas y profirinas, tienen una gran capacidad oxidante frente a muchas moléculas biológicas, sobre todo lípidos de las membranas. Además tiende a formarse en grandes cantidades en tejidos y órganos sometidos a radiaciones ionizantes terapéuticas

Óxido nítrico (NO^*)

También el oxígeno tiene la capacidad de formar compuestos con el nitrógeno y éstos pueden ser más reactivos que el oxígeno. Estas especies son el óxido nítrico (NO^*), el dióxido de nitrógeno (NO_2^*) y el peroxinitrito (ONOO^-) los cuales se conocen como especies reactivas del nitrógeno (ERN) ⁽⁴³⁾.

I.3.b. Defensas antioxidantes

En términos bioquímicos, un antioxidante puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxido-reducción. Los antioxidantes han sido clasificados de diferentes maneras, de las cuales la más utilizada es la que establece las diferencias de acuerdo con la estructura química y función biológica, dividiéndolos en enzimáticos y no enzimáticos.

Antioxidantes enzimáticos

Las defensas antioxidantes consisten primeramente en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos capaces de efectuar la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios. Esto lo logra, con una gran

eficiencia, el sistema citocromo-oxidasa, el cual reduce más del 90% del oxígeno en el organismo humano. En segundo lugar están algunas enzimas especializadas como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) entre otras.

Superóxido dismutasas (SOD)

Las isomorfos de SOD son metaloenzimas que catalizan la dismutación del anión superóxido para producir oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno según la reacción 6.



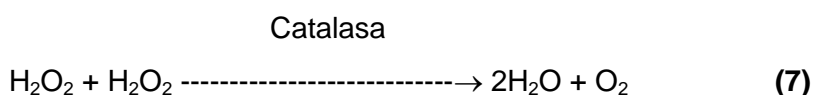
En mamíferos se han identificado tres isomorfos de la SOD y las tres son de genes diferentes según los estudios de Ho y colaboradores en 1991). Una contiene Cu y Zn (**CuZnSOD**)⁽⁴³⁾ y se localiza principalmente en citoplasma de eucariotes, la SOD que contiene Mn (**MnSOD**) se encuentra principalmente en mitocondria, y la extracelular (**EC-SOD**) que también contiene cobre y zinc en su sitio activo. Del 90-99% de la EC-SOD se localiza en la matriz extracelular⁽⁴⁴⁾.

Las isomorfos que contienen cobre, catalizan la dismutación del anión superóxido a través de la reducción-oxidación alternativa del cobre y la que contiene manganeso, cambia su estado de oxidación al interaccionar con $\text{O}_2^{\bullet-}$ ⁽⁴⁴⁾.

La SOD no es realmente una enzima destoxificante, ya que el producto de su actividad, el H_2O_2 , es un agente tóxico. Sin embargo, la dismutación del $\text{O}_2^{\bullet-}$ es el primer paso de la cascada enzimática que conduce a la inactivación completa del $\text{O}_2^{\bullet-}$ formado. El segundo paso, depende de la **catalasa**.

Catalasa (CAT)

Esta enzima antioxidante cataliza la transformación de H_2O_2 en agua. En mamíferos esta enzima está presente en hígado y riñón en altas concentraciones, y en bajas en tejido conectivo ⁽⁴⁵⁾. En la mayoría de las células se ha localizado en el citosol, mitocondrias y organitos subcelulares como los peroxisomas. En los eritrocitos la enzima existe en una forma soluble ⁽⁴⁶⁾ y cataliza la siguiente reacción:



Glutación peroxidasa (GSH-Px)

Las peroxidasas son otras enzimas que catalizan la reducción de H_2O_2 por diversos donadores de electrones. Se han identificado hasta ahora cuatro tipos de GSH-Px (glutación: H_2O_2 oxidoreductasa) dependientes de selenio: 1) la citosólica (**cGSH-Px**), es la más abundante selenoproteína en la rata y está presente virtualmente en todos los tejidos⁽⁴⁷⁾. La cGSH-Px tiene la función de almacenamiento del elemento traza (selenio) cuando las concentraciones H_2O_2 son bajas y de antioxidante bajo condiciones donde hay relativamente grandes cantidades de H_2O_2 o hidroperóxidos de lípidos que son producidos en el citosol⁽⁴⁸⁾; 2) la plasmática (**plGSH-Px**), es la responsable de toda la actividad peroxidasa en el plasma ^(49,50) y se cree que juega un papel clave en el sistema de defensa antioxidante del plasma ⁽⁵¹⁾, 3) la gastrointestinal (**glGSH-Px**), el ARNm para glGSH-Px se ha encontrado en hígado de humano y colon pero no en otros tejidos; en ratas el ARNm se ha detectado solo en el tracto gastrointestinal ⁽⁵²⁾. La localización de esta isomorfa de glutación peroxidasa, sugiere que juega un papel en la protección contra los efectos adversos de los hidroperóxidos de la dieta, y 4) la de fosfolípidos (**PLGSH-Px**), es abundante en los testículos y puede ser regulada por gonadotropinas⁽⁵³⁾. También tiene un sitio de fosforilación, el cual puede tener un papel en la regulación de la actividad de la enzima ^(54,55).

Las cuatro isomorfos catalizan la oxidación del glutatión reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG), el cual, a su vez, es reducido por la enzima glutatión reductasa en presencia de NADPH, impidiendo así que se agoten las reservas de GSH.

Antioxidantes no enzimáticos

Además de las enzimas mencionadas, hay un gran número de compuestos que poseen propiedades antioxidantes. El glutatión en su forma reducida (GSH), algunos minerales como selenio, zinc y cobre, o vitaminas como riboflavina, ácido ascórbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), carotenos, bilirrubina entre otros, son esenciales para la defensa contra el daño oxidativo debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes o como atrapadores de radicales libres endógenos ⁽⁵⁶⁾.

Vitamina E (α -tocoferol)

Conformada por cuatro tocoferoles, de los cuales el más importante es el α -tocoferol. Es el principal antioxidante liposoluble y se encuentra tanto en el plasma vinculado con los lípidos circulantes como en todas las membranas celulares. La concentración plasmática de la vitamina E depende de la cantidad aportada por los lípidos circulantes (perfil lipídico) de cada persona. La vitamina E protege contra la lipoperoxidación, al actuar de manera directa con varios radicales entre los que se incluyen: el HO^\bullet , el radical peroxilo, el triclorometilo CCl_3^\bullet (radical producido a partir del tetracloruro de carbono), así como el anión superóxido. El singulete también reacciona con el α -tocoferol a pesar de tener una vida media breve. La vitamina E, representa un mecanismo antioxidante eficiente en contra del daño a membranas celulares, inducido por las ERO, ya que se incorpora como constituyente y estabilizador de la estructura de la membrana celular. Es efectiva como agente antioxidante convirtiendo al HO^\bullet y a los radicales lipo-peroxilo en moléculas menos reactivas. La molécula de α -tocoferol es muy eficiente como agente interruptor de la cadena de peroxidación, debido a la formación del radical tocoferoxilo ($\alpha\text{-T}^\bullet$) que es relativamente estable y no reacciona con lípidos. Esta reactividad limitada, es debida a la estabilidad por resonancia que le confiere su

anillo aromático, disminuyendo la reactividad del electrón no apareado (radical libre); sin embargo es suficientemente estable como para detener la cadena de reacción de radicales libres, donando su electrón. Recupera su forma estable, al ser reducido por ascorbato y posiblemente por la actividad externa redox de las moléculas que constituyen el par ascorbato-glutación-SH de la membrana⁽⁵⁶⁾.

Vitamina C (ácido ascorbico)

Se localiza intra y extracelularmente. Es en una molécula hidrosoluble, que se encuentra disponible en todos los compartimientos del organismo; y puede participar como agente estabilizador del radical libre al funcionar como reductor mono-electrónico (scavenger) de los radicales $O_2^{\bullet -}$ y HO^{\bullet} , modificando su estado redox al formar el radical libre semi-deshidroascorbato, que es subsecuentemente oxidado a deshidroascorbato por la reducción e inactivación de otro anión superóxido. La reducción del deshidroascorbato se lleva a cabo mediante dos reacciones sucesivas que involucran la participación del glutación-SH (reducido), formando el radical tiilo (S^{\bullet}) en el glutation. Este radical (S^{\bullet}) también puede inactivar a varios agentes oxidantes. El deshidroascorbato es reducido a ascorbato nuevamente en una reacción que involucra a una reductasa dependiente de glutación reducido (GSH), que queda en su forma oxidada (GSSG). El ciclo del glutación es considerado como uno de los procesos esenciales en la defensa antioxidante del organismo, y es uno de los procesos afectados en el estrés oxidante. La vitamina C suprime la inactivación de antiproteasas por oxidantes generados por el sistema haluro-mieloperoxidasa del neutrófilo, y ejerce una inactivación dosis-dependiente de los oxidantes extracelulares liberados por el neutrófilo. La vitamina C contribuye a la regeneración de la forma activa de la α -tocoferol unida a membrana y que está oxidado, permitiendo que permanezca su función como interruptora de la lipoperoxidación. A pesar de las características antes mencionadas la vitamina C no es considerada como el antioxidante ideal debido a que puede presentar propiedades pro-oxidantes; ya que es probablemente el único agente reductor de la célula que en presencia de $O_2^{\bullet -}$ (a quien reduce formando H_2O_2 es capaz de reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} que a su vez puede reaccionar con H_2O_2 dando lugar por

medio de la reacción de Fenton, al radical más reactivo que es el HO^\bullet ⁽⁵⁶⁾. Para que esta reacción se lleve al cabo se requieren dos condiciones; una es la disposición de Fe en los tejidos y en circulación, debido a la hemólisis o a la ingestión de hierro como suplemento alimenticio (poli-vitamínicos). El otro factor es la automedicación de vitamina C en individuos cuya dieta ya cumpla con los requerimientos diarios establecidos.

β-caroteno

El β-caroteno es un pigmento insoluble en agua presente prácticamente en todas las plantas y algas; el cual constituye el precursor más importante de la vitamina A. Es la molécula que reacciona más eficazmente con el Singulete de oxígeno y se localiza en membranas. Sin embargo, la vitamina A no interacciona con el singulete de oxígeno y carece de actividad para la depuración de los radicales libres⁽⁵⁶⁾.

I.4. Relación de la obesidad con el estrés oxidativo

Las Especies reactivas del oxígeno se producen bajo condiciones fisiológicas como ya hemos mencionado con anterioridad, pero en muchas enfermedades puede causar daños directos o indirectos en los diferentes órganos, por lo que se sabe que el estrés oxidativo (EO) está involucrado en procesos patológicos tales como la obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, y los procesos aterogénicos. Podemos mencionar que de forma general la obesidad puede inducir estrés oxidativo sistémico y, a su vez, el estrés oxidativo sistémico se asocia con una producción irregular de adipocinas, lo que contribuye al desarrollo del síndrome metabólico en la obesidad. Los marcadores biológicos de daño oxidativo son mayores en individuos con obesidad^(57,58) y se correlacionan directamente con el IMC y el porcentaje de grasa corporal, la oxidación de LDL y los niveles de TG, por el contrario, los marcadores de defensa antioxidante son menores de acuerdo al grado de la obesidad y la grasa corporal central⁽⁵⁹⁾. Por ejemplo Patel y colaboradores demostraron que una dieta rica en

grasas e hidratos de carbono induce un incremento significativo del estrés oxidativo sistémico y la inflamación en personas con obesidad ⁽⁶⁰⁾

Mecanismos de formación de radicales libres en la obesidad

Tejido adiposo

El aumento del estrés oxidativo sistémico asociado a la obesidad se debe probablemente a la presencia de un exceso de tejido adiposo en sí, ya que los adipocitos y preadipocitos se han identificado como una fuente de citocinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1, e IL-6, por lo que la obesidad se considera un estado de inflamación crónica⁽⁶¹⁾. Estas citoquinas son potentes estimuladores de la producción de oxígeno reactivo y el nitrógeno por los macrófagos y los monocitos, por lo tanto, un aumento en la concentración de citoquinas podrían ser responsables de un aumento del estrés oxidativo sistémico. Además el TNF- α inhibe la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM), incrementando la interacción de los electrones con O₂ para generar O₂^{•-}, aunando a esto el aumento de la interacción de los electrones con el oxígeno para generar anión superóxido. El tejido adiposo tiene la capacidad secretora de la angiotensina II, que estimula la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa la cual comprende la ruta principal para la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) en adipocitos ⁽⁶²⁾.

Oxidación de ácidos grasos.

Oxidación mitocondrial y peroxisomal de ácidos grasos son capaces de producir radicales libres en el hígado y, por lo tanto, estrés oxidativo sistémico, lo que podría dar lugar a alteraciones del DNA mitocondrial en la fosforilación oxidativa que se produce en las mitocondrias, provocando alteraciones estructurales y el agotamiento del adenosin trifosfato (ATP). Sin embargo, también es posible que las alteraciones mitocondriales de las enfermedades preexistentes permiten la producción excesiva de ERO ⁽⁶³⁾

Triglicéridos

El otro mecanismo involucra un efecto de los triglicéridos elevados sobre el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM); específicamente se ha propuesto que los triglicéridos intracelulares, que también están elevados, inhiben el translocador de adenin nucleotidos y fomentan la generación de $O_2^{\bullet-}$ ⁽⁶⁴⁾. Tomando en consideración la facilidad que tiene el $O_2^{\bullet-}$ para reaccionar rápidamente con óxido nítrico (un vasodilatador liberado por el endotelio vascular) impidiendo su efecto vasodilatador y produciendo peroxinitrito, que es un potente oxidante, con lo que se favorece la hipertensión en la obesidad.

Consumo excesivo de oxígeno

La obesidad aumenta la carga mecánica y el metabolismo del miocardio, por lo tanto, el consumo de oxígeno es mayor. Una de las consecuencias negativas del consumo de oxígeno es que aumenta la producción de ERO como el superóxido, el peróxido y el radical hidroxilo, y el hidrógeno derivado del aumento en la respiración mitocondrial, y también cabe destacar que la pérdida de electrones producidos en la cadena transportadora de electrones, da lugar a la formación de radical superóxido. ⁽⁶⁴⁾

La acumulación de daño celular

La acumulación de grasa en exceso puede causar daño celular debido a la presión a partir de las células de grasa (como en la esteatohepatitis no alcohólica). El daño celular a su vez conduce a una alta producción de citocinas como el TNF- α , lo que genera especies reactivas de oxígeno en los tejidos, aumentando la tasa de peroxidación de los lípidos. ⁽⁶⁴⁾

El tipo de dieta

Otro posible mecanismo de formación de ERO en la obesidad es a través de la dieta. El consumo de dietas altas en grasa puede alterar el metabolismo del oxígeno. Los depósitos de grasa son vulnerables a las reacciones de oxidación que sufren. Si la producción de estas especies reactivas de oxígeno (ERO) excede la capacidad antioxidante de la célula, da como resultado estrés oxidativo sistémico de la peroxidación lipídica y podría contribuir además al desarrollo de la aterosclerosis en los individuos obesos ⁽⁶⁴⁾

Papel de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo sistémico en la obesidad

Las mitocondrias proporcionan la energía necesaria para casi todos los procesos celulares que en última instancia, permite la realización de las funciones fisiológicas, además, juegan un papel central en la muerte celular por el mecanismo de la apoptosis. La disfunción mitocondrial ha sido implicado en una variedad de enfermedades que van desde enfermedades neurodegenerativas a la diabetes y el envejecimiento. La obesidad se puede incluir en los trastornos que afectan el metabolismo mitocondrial, lo que favorece la generación de ERO y el desarrollo de estrés oxidativo sistémico. Por otro lado, otro mecanismo se ha propuesto que implica un efecto de triglicéridos (TG) sobre el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial, en la que los TG intracelulares, que son también altos, inhiben la translocación de los nucleótidos de adenina y promueve la generación de superóxido. El proceso mitocondrial de la fosforilación oxidativa es muy eficiente, pero un pequeño porcentaje de los electrones antes de tiempo puede reducir el oxígeno, formando radicales libres potencialmente tóxicos, que alteran la función mitocondrial. Más allá de que, bajo ciertas condiciones, los protones pueden ser reintroducidos en la matriz mitocondrial a través de proteínas desacoplantes diferentes (UCPs), que afectan el control de la producción de radicales libres en la mitocondria ⁽⁶⁵⁾.

Hasta la fecha, tres moléculas han sido descritas en las mitocondrias de mamíferos: UCP-1, 2 y 3. UCP-1 está implicado en el control de la termogénesis adaptativa y control de peso. UCP-3, que en los seres humanos sólo se encuentra en el músculo esquelético, parece ejercer un efecto sobre la termogénesis, pero sobre todo protege a la mitocondria de lipotoxicidad en los casos de aumento de las concentraciones de ácidos grasos libres en la matriz, ya que lleva a estos al espacio intermembranas. Podemos citar como ejemplo que durante la obesidad, el aumento de ácidos grasos libres, que es tóxico para las células pancreáticas que son sensibles a la oxidación y a las alteraciones en la inducción de la liberación de insulina, puede conducir al desarrollo de DM ⁽⁶⁶⁾. El papel potencial de la UCP-2 incluyen el control de la síntesis de ATP, la regulación del metabolismo de los ácidos grasos, y, por tanto, el control de ERO y la producción de las mismas. Además se postula que la UCP-2 puede movilizar a los ácidos grasos libres fuera de la matriz mitocondrial, los que pueden ser perjudiciales para el buen funcionamiento de este organelo.

Obesidad y Capacidad Antioxidante

Cuando la obesidad se mantiene durante un largo tiempo, las fuentes de antioxidantes se pueden agotar, provocando la disminución de la actividad de las enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) ⁽⁶⁷⁾. La actividad de SOD y glutatión peroxidasa (GPx) en individuos con obesidad es significativamente más bajo en comparación con personas sanas. Además que los niveles séricos de antioxidantes como la vitamina A, vitamina E, vitamina C y β -caroteno, así como el glutatión, disminuyen en la obesidad ⁽⁶⁸⁾.

Óxido Nítrico y obesidad

El óxido nítrico (NO) es un regulador fisiológico de diversas funciones en varios tejidos, incluyendo cardiovasculares, neuromusculares, neurológicas, genitourinarias, gastrointestinales y renales. Los inhibidores de la óxido nítrico sintasa (INOS) reducen la producción de NO y evitan la disminución de la secreción de insulina causada por los

ácidos grasos libres. El óxido nítrico es un importante agente anti-aterogénico y que inhibe la activación y agregación plaquetaria, la quimiotaxis de leucocitos, y la adhesión endotelial ⁽⁶⁹⁾. La vasodilatación dependiente de ON está deteriorada en condiciones de sobrepeso y obesidad, lo que se observa igualmente en la presencia de hipercolesterolemia. En las personas con obesidad hay un aumento en la producción de superóxido, así como la expresión de NO endotelial lo que puede aumentar la producción de peroxinitrito, aunando a esto la disminución de la disponibilidad de NO que causa vasoconstricción y esto también ocurre en los vasos sanguíneos del hígado ⁽⁷⁰⁾.

Disfuncion endotelial y obesidad

El endotelio vascular es un órgano endocrino, paracrino y autocrino que es indispensable para la regulación del tono vascular y el mantenimiento de la homeostasis vascular. La disfunción endotelial se caracteriza por una reducción de la biodisponibilidad de vasodilatadores, en particular el óxido nítrico, y un aumento de factores de contracción. También incluye un estado específico de la activación endotelial, que se caracteriza por un estado proinflamatorio, proliferativo, y procoagulante, todos a favor de la aterogénesis. La disfunción endotelial puede ser causada por la inflamación que estimula a los radicales libres y las citoquinas. Aunando a esto, la oxidación de LDL que está asociada con un aumento en la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio, lo que facilita la infiltración de monocitos al espacio subendotelial. Todo esto favorece la menor actividad del NO mediante el aumento de la producción de factores que inhiben las funciones de éste, como la endotelina y la angiotensina II, reduciendo así las acciones benéficas ejercida por el óxido nítrico en la función vascular. Recientemente, el papel del tejido adiposo y su secreción de adipocinas se ha destacado como una de las principales causas de la disfunción endotelial. La disfunción del tejido adiposo, como ocurre en la obesidad y la resistencia a la insulina, se caracteriza por la activación de una señal inflamatoria. Algunas de estas señales, surgen de forma directa e indirectamente de sustancias secretadas en el tejido adiposo. Entonces las especies reactivas del oxígeno se

generan en los sitios de inflamación y daño; una alta concentración de éstos puede causar daño y muerte celular, y en concreto, aumenta la permeabilidad del endotelio vascular y promueve la adhesión de los leucocitos. En las personas con obesidad, se muestra un contenido más alto de los radicales superóxido y nitrotirosina en el endotelio coronario, y la obesidad temprana se caracteriza por el aumento del estrés oxidativo sistémico y la disfunción endotelial asociada con un aumento de los niveles de leptina, además, se ha informado de que la pérdida de peso mejora la vasodilatación dependiente a nivel del endotelio, mejorando así los marcadores de activación endotelial y disminuyendo los niveles de citocinas proinflamatorias⁽⁷¹⁾

Complicaciones por estrés oxidativo en la obesidad.

Ya hemos mencionada en el apartado consecuencias de la obesidad, todas las comorbilidades que se relacionan a esta, pero hay que resaltar que muchas de estas complicaciones están relacionadas al estrés oxidativo sistémico presente en esta patología, entonces haremos referencia del daño por estrés oxidativo en algunos órganos como el hígado, para puntualizar lo que el EO en el paciente con obesidad puede causar. Citaremos que el EO en la obesidad no sólo induce daño vascular, si no hígado graso o esteatosis hepática que es una complicación común que vuelve a este órgano particularmente susceptible a necrosis por daños que suelen ser bien tolerados por un hígado normal tales como Isquemia-reperfusión y exposición a endotoxinas⁽⁷²⁾. Además, el hígado graso puede evolucionar hasta esteatohepatitis y cirrosis. Son diversas las causas que pueden provocar esteatohepatitis, es común en los casos de abuso en el consumo de alcohol, pero en la obesidad se induce debido al incremento de ácidos grasos libres (AGL) circulantes que son liberados por el tejido adiposo como respuesta a la resistencia a insulina⁽⁷³⁾. La cantidad de AGL internalizados en el hígado no es regulada, por lo que es proporcional a la concentración plasmática⁽⁷⁴⁾. Además, se incrementa la lipogénesis en el órgano y se favorece la acumulación intracelular de triglicéridos⁽⁷⁵⁾. En ratas obesas se ha observado que el hígado desarrolla mecanismos para protegerse de la acumulación de triglicéridos y AGL y el desarrollo de EO, sobre expresando una proteína desacoplante que normalmente no es constitutiva en

hepatocitos (UCP-2), con lo cual se trata de evitar la formación de $O_2^{\cdot-}$ por la CRM ⁽⁷⁶⁾. En forma opuesta a la obesidad, se ha demostrado que la restricción calórica, disminuye la generación mitocondrial de ERO, reduce la susceptibilidad a lipoperoxidación y los niveles de marcadores de daño oxidativo en hígado de rata ⁽⁷⁷⁾. Para integrar los mecanismos antes mencionados en la obesidad estos procesos se llevan a cabo al mismo tiempo, debido en parte a la mala alimentación. La dieta hipercalórica (lípidos y carbohidratos) que por lo regular llevan estos pacientes es la responsable del incremento en la producción de ERO y RL, además de cursar con procesos inflamatorios, mecanismo por el cual también se producen altas concentraciones de ERO. La poca ingesta de proteína da lugar a una disminuida síntesis de antioxidantes como las enzimas y el GSH, por lo que se ve mermada esta capacidad para contrarrestar los efectos de los RL. Como consecuencia se obtiene daño celular y molecular (ácido nucleicos, lípidos y proteínas) ⁽⁷⁸⁾.

I.4. a. Inflamación resistencia a la insulina y estrés oxidativo

Ya hemos hablado con anterioridad sobre la obesidad como un estado inflamatorio, pero solo mencionaremos en este punto a la inflamación como una manifestación del aumento del estrés oxidativo sistémico, que se incrementa en gran medida en los sujetos con obesidad y se relaciona con la resistencia a la insulina y la disfunción endotelial. Una posible explicación de la presencia de adipocinas en el tejido adiposo puede ser la hipoxia. Y nos referimos a la hipoxia que se produce durante el crecimiento excesivo del tejido adiposo en la obesidad. El tejido adiposo produce el 25% de la IL-6 sistémica, por lo que se dice que el tejido adiposo puede inducir a un menor grado de inflamación sistémica en personas con exceso de grasa corporal. La evidencia general indica que, en comparación con los macrófagos, las células grasas tienen una capacidad igual o mayor que las células inflamatorias, y se ha observado que el aumento de los factores liberados por los adipocitos pueden verse reflejados en la inflamación sistémica ⁽⁷⁹⁾. Nishimura et al ⁽⁸⁰⁾ sugieren que el tejido adiposo en la obesidad activa las células T CD8 (+), que a su vez, promueven el reclutamiento y la activación de los macrófagos en el tejido. Estos resultados apoyan la idea de que las

células T CD8 (+) juegan un papel esencial en la iniciación y propagación de la inflamación en el tejido adiposo en la obesidad y el estrés oxidativo. Como se muestra en la figura 1.

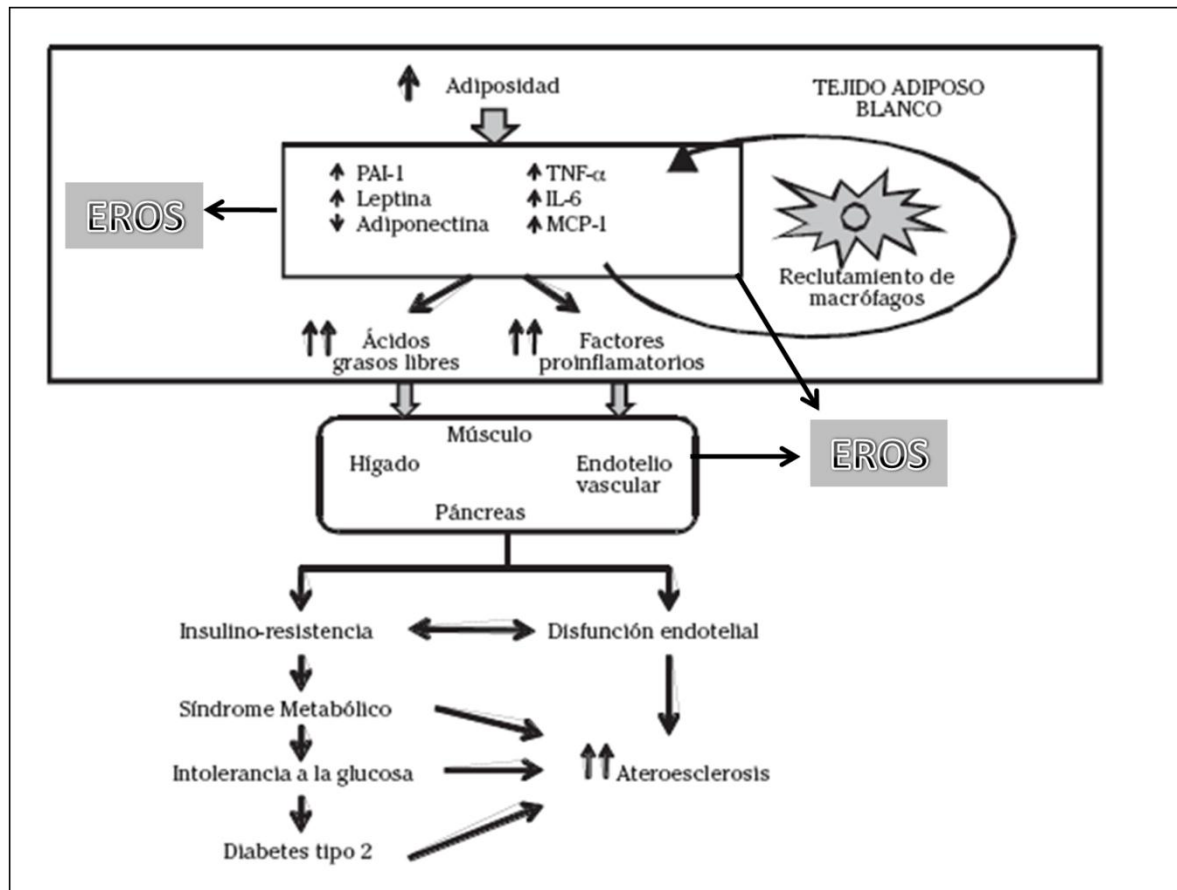


Figura 1. Potenciales mecanismos por los que la obesidad promueve un estado inflamatorio crónico que contribuye al desarrollo de insulino-resistencia, diabetes tipo 2 y complicaciones vasculares

Además, el estado inflamatorio asociado con la obesidad ha sido propuesto como nexo de unión con varios desórdenes asociados a la misma como la resistencia a la insulina. También se ha estudiado que junto con el tejido adiposo, el músculo esquelético y el hígado desempeñan un papel clave en el metabolismo de la glucosa dependiente de insulina.

Mencionaremos entonces de forma general los posibles mecanismos de resistencia a la insulina relacionados con la obesidad, podemos citar como ejemplo que

el TNF- α produce la fosforilación de la tirosina del sustrato del receptor de la insulina (SRI-1). En este sentido, se ha demostrado que TNF- α juega un importante papel en el desarrollo de resistencia a insulina a nivel del receptor ⁽⁸¹⁾. Además, cuando la actividad del TNF- α se bloquea bioquímica o genéticamente, el resultado es una mejoría en la sensibilidad a insulina. Asimismo, también se ha demostrado que la IL-6 desequilibra la señalización de insulina tanto en adipocitos como en hepatocitos.

El aumento de lipólisis estimulada por citoquinas en los sujetos obesos, y el incremento de los ácidos grasos libres circulantes que ya hemos mencionado, además de los metabolitos derivados de ácidos grasos intracelulares se han relacionado con el desarrollo de resistencia insulínica en el músculo esquelético y en el hígado sugiriendo que los ácidos grasos libres pueden ser un importante eslabón entre la inflamación crónica del tejido adiposo y la resistencia insulínica sistémica en los obesos. ⁽⁸²⁾

La arteriosclerosis, se ha descrito también como una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por la activación de mecanismos proinflamatorios y la acumulación de monocitos y macrófagos en la capa íntima junto con la infiltración de lípidos. Además, niveles altos de marcadores de inflamación, como la proteína C reactiva (PCR) e IL-6, se han asociado con elevado riesgo de desarrollo de arteriosclerosis y sus complicaciones como el infarto agudo de miocardio. Retomando con esto la relación que existe en la obesidad y la disfunción endotelial y la resistencia a la insulina. Se ha observado que la infusión de dosis bajas de insulina en pacientes con infarto agudo de miocardio produce una reducción en la inflamación, sugiriendo que la insulina posee a la vez acciones anti-inflamatorias y anti-aterogénicas. Por ello, se ha propuesto como posible mecanismo para explicar la conexión entre inflamación y arterioesclerosis, ya que la resistencia a insulina podría facilitar un estado proinflamatorio por el descenso en los efectos anti-inflamatorios y anti-ateroscleróticos de la insulina ⁽⁸²⁾.

Daño a biomoléculas y estrés oxidativo

LDL oxidada

Aunque también se sabe la importante participación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas por radicales libres, que son retenidas en la íntima de las arterias, contribuyendo en muchas de las etapas posteriores del desarrollo de la placa aterosclerótica, tales como migración de monocitos y formación de células espumosas⁽⁸³⁾, se atribuye este efecto también a la dislipidemia producida por la resistencia a la insulina que acompaña a la obesidad⁽⁸⁴⁾

Daño a insulina

Para entender este mecanismo referiremos de forma general las funciones de esta hormona, la insulina descubierta por Banting y Best en 1922, originalmente llamada isletina, la insulina es una hormona peptídica anabólica producida en las células insulares del páncreas. Está constituida por una cadena α de 21 aminoácidos y una β de 30 aminoácidos, unidas por dos puentes disulfuro.

Posee un peso molecular de 6,000 daltones, con un punto isoelectrico a pH 5.4, su vida media plasmática es de aproximadamente 6 minutos y desaparece de la circulación de 10 a 15 minutos. A pesar de los periodos de digestión y ayuno, la concentración plasmática se mantiene constante entre 4 y 7 mmol/L (5-20 μ U/mL) en individuos sanos, la liberación de la insulina en respuesta a la glucosa se da en proporción a la glucemia a su vez regulada por la absorción intestinal, la producción y liberación hepática de la glucosa y el metabolismo de los tejidos periféricos. La insulina es degradada por la enzima insulinasa, presente en mayor concentración en el hígado riñones y músculo⁽⁸⁵⁾.

La insulina tiene efectos en diversos tejidos. Sin embargo, el hígado, músculo y el tejido adiposo son, los blancos más importantes para su acción, en los cuales promueve la síntesis de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos⁽⁸⁵⁾.

Los efectos de la insulina sobre el metabolismo de los carbohidratos incluyen: estimulación del transporte de glucosa a través de las membranas de los adipocitos y de las células musculares; regulación de la síntesis del glucógeno hepático, e inhibición de la formación de glucosa a partir del glucógeno (glucogenólisis) y de los aminoácidos precursores (gluconeogénesis). El resultado final de todas estas acciones es una reducción de la glucemia⁽⁸⁵⁾. Con relación al metabolismo de las proteínas, la insulina promueve la transferencia de aminoácidos a través de las membranas plasmáticas, estimula la síntesis proteínica e inhibe la proteólisis. La incorporación de ácidos grasos a partir de triacilglicerolos circulantes en triacilglicerolos del tejido adiposo y la síntesis de lípidos son estimuladas por la insulina; la lipólisis es inhibida ⁽⁸⁵⁾. La insulina contribuye a la síntesis de ácidos nucleicos mediante estimulación de la síntesis de ATP, DNA y RNA ⁽⁸⁵⁾.

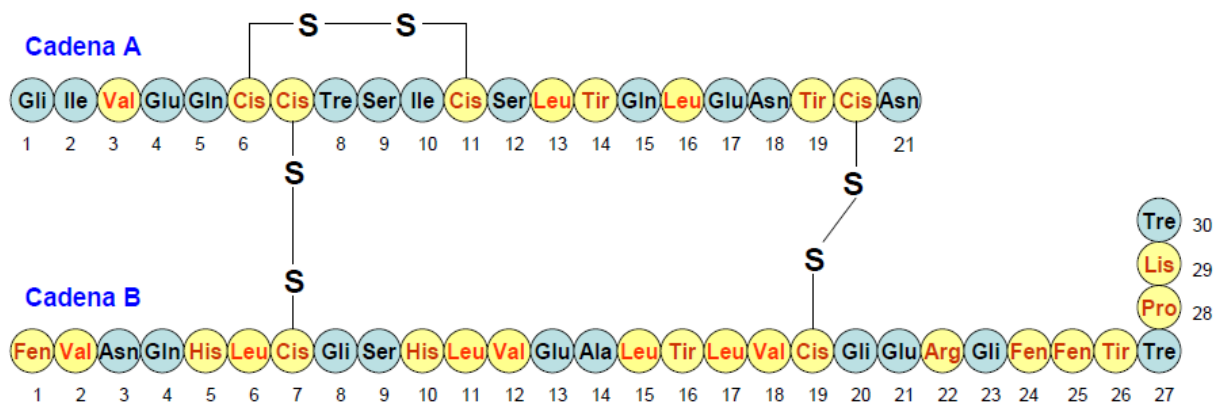


Figura 2. Estructura de la insulina.

Insulina y órganos blanco

Para que la insulina inicie sus efectos en las células blanco, ha de unirse primero y activar una proteína (glicoproteína) receptora de la membrana, cuyo peso molecular se aproxima a 300 000 Daltones. Este receptor activado, y no la insulina, es el que desencadena los efectos posteriores. El receptor insulínico es una combinación de cuatro subunidades enlazadas a través de puentes disulfuro: dos subunidades α , que

se encuentran totalmente fuera de la membrana celular, y dos β , que atraviesan la membrana y sobresalen en el interior del citoplasma ver figura 3 . La unión de la insulina con el receptor da lugar al inicio de una serie de procesos químicos (fosforilación y desfosforilación) que llevan a la activación de diversas vías de señalización, entre los que destacan la tirosina cinasa, que es una enzima que forma parte de la subunidad β . Inmediatamente después de que se fosforilan estas subunidades a su vez fosforilan a otras proteínas que producen la estimulación del transporte de glucosa al interior de la célula. Este proceso se lleva a cabo por la movilización (translocación) de un gran número de transportadores de glucosa (GLUT's) hacia la membrana celular, en la que se insertan para captar la glucosa e introducirla al interior de la célula.

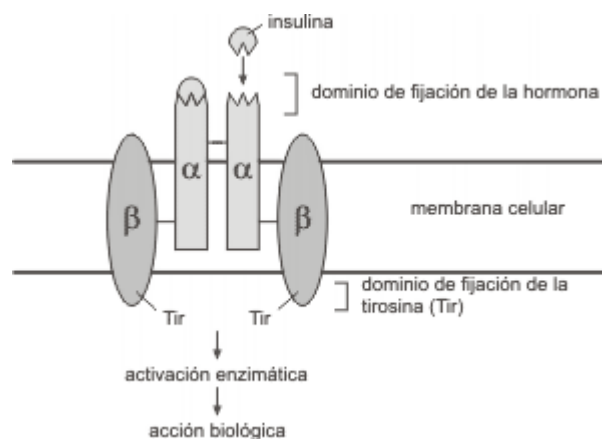


Figura 3. Receptor de la hormona insulina

Cada tipo de células tiene transportadores específicos de glucosa con una hexocinasa asociada (enzima) que convierte a la glucosa en glucosa 6 fosfato, que es el punto de partida de las diversas vías metabólicas intracelulares.

El músculo y el tejido adiposo poseen el transportador tipo IV (GLUT 4) en asociación con la hexocinasa II. El hígado y el páncreas tienen como transportador el GLUT 2 con la hexocinasa IV. En los tejidos que no requieren insulina como el cerebro y glóbulos rojos, predomina el GLUT 2 acoplado con la hexocinasa IV. Con la activación de los IRS's (insulin receptor substrates) se inicia la activación de diversos procesos

bioquímicos y el efecto neto, es la dirección de la maquinaria metabólica intracelular para provocar los efectos deseados sobre el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas.

Insulina y metabolismo de Carbohidratos

Durante gran parte del día, la energía para el tejido muscular no depende de la glucosa sino de los ácidos grasos. La principal razón es que la membrana muscular en reposo es muy poco permeable a la glucosa, salvo que se estimule la fibra muscular por la insulina; la cantidad de insulina secretada entre las comidas es muy reducida para propiciar una entrada importante de glucosa a las células musculares (miocitos). Sin embargo, existen dos situaciones en las que el músculo consume mucha glucosa. Una de ellas es el ejercicio moderado o intenso. Para esta utilización de la glucosa no se necesitan grandes cantidades de insulina porque las fibras musculares que se ejercitan se tornan permeables a la glucosa, por razones no bien aclaradas, aun en ausencia de insulina; basta con la simple contracción.

El segundo estado en el que el músculo consume mucha glucosa son las horas siguientes a las comidas. En esta fase, la concentración sanguínea de la glucosa se eleva y el páncreas secreta mucha insulina. La insulina “extra” induce un transporte rápido de la glucosa al miocito.

Por eso, el miocito utiliza glucosa en lugar de ácidos grasos en este período. Si el músculo no se ejercita después de una comida, pero la glucosa se transporta en abundancia a su interior, la mayor parte de ella se deposita como glucógeno muscular y no se emplea como sustrato energético (hasta un límite del 2-3% de su concentración). Este glucógeno se aprovechará más tarde para fines energéticos. Se trata de un mecanismo muy útil para los períodos cortos de utilización intensa de energía por el músculo o incluso para los instantes de máxima energía anaerobia, es decir, para los escasos minutos de transformación glucolítica del glucógeno a ácido láctico, que suceden incluso en ausencia de oxígeno.

La insulina y glucógeno hepático.

Uno de los efectos más importantes de la insulina es el depósito casi inmediato de glucógeno en el hígado a partir de casi toda la glucosa absorbida después de una comida. Luego, entre las comidas, cuando ya no se dispone de alimento y la glucemia empieza a descender, la secreción de insulina disminuye con rapidez y el glucógeno hepático se transforma de nuevo en glucosa, que se libera otra vez a la sangre para evitar que la glucemia baje demasiado.

El mecanismo por el cual la insulina facilita la captación y depósito de glucosa en el hígado comprende varias etapas casi simultáneas:

La insulina inactiva la fosforilasa hepática, la enzima principal encargada de transformar el glucógeno hepático en glucosa.

La insulina aumenta la captación de glucosa sanguínea por el hepatocito. Para ello, aumenta la actividad de la enzima glucocinasa, una de las que provoca la fosforilación inicial de la glucosa tras su difusión al hepatocito. La glucosa, una vez fosforilada, queda atrapada de forma pasajera dentro del hepatocito, porque la glucosa fosforilada no puede difundir de nuevo fuera de la membrana celular.

La insulina aumenta, asimismo, la actividad de las enzimas favorecedoras de la síntesis de glucógeno, en particular de la glucógeno sintasa, responsable de la polimerización de los monosacáridos para formar las moléculas de glucógeno. El efecto neto de todas estas acciones es un incremento del glucógeno hepático.

Cuando termina una comida y la glucemia empieza a descender hasta unas cifras bajas, suceden varios acontecimientos por los que el hígado vuelve a liberar glucosa a la sangre circulante. El descenso de la glucemia hace que el páncreas reduzca la secreción de insulina. La falta de insulina revierte, entonces, todos los efectos enumerados anteriormente para el depósito de glucógeno; en particular, cesa la nueva síntesis de glucógeno en el hígado y se evita la captación de más glucosa de la

sangre por el hígado. La falta de insulina (junto con el incremento del glucagón) activa la enzima fosforilasa. Que determina la transformación del glucógeno en glucosa-fosfato. La enzima glucosa fosfatasa, inhibida previamente por la insulina, se activa ahora por la falta de la hormona y provoca la liberación de la glucosa de su grupo fosfato, con lo que la glucosa libre difunde de nuevo a la sangre.

Si la cantidad de glucosa que entra en el hepatocito es superior a la que se puede depositar como glucógeno o utilizar para el metabolismo hepatocítico local, la insulina fomenta la conversión de todo este exceso de glucosa en ácidos grasos. Luego, estos ácidos grasos se empaquetan como triglicéridos dentro de lipoproteínas de muy baja densidad, que son transportadas por la sangre al tejido adiposo para depositarse como grasa. La insulina inhibe, además, la neoglucogénesis. Para ello, reduce la cantidad y la actividad de las enzimas hepáticas necesarias para este proceso.

Efecto de la insulina y metabolismo de lípidos.

La insulina aumenta la utilización de la glucosa por casi todos los tejidos orgánicos y reduce automáticamente la utilización de la grasa, es decir, ahorra lípidos. No obstante, la insulina también fomenta la síntesis de ácidos grasos, sobre todo cuando más carbohidratos se ingieren; estos se emplean de inmediato para la energía y aportan el sustrato para la síntesis de grasa. Casi toda la síntesis tiene lugar en los hepatocitos; luego, los ácidos grasos son transportados desde el hígado por las lipoproteínas de la sangre a las células adiposas, donde se almacenan. Los factores que incrementan la síntesis de ácidos grasos en el hígado se refieren a continuación.

La insulina acelera el transporte de glucosa a los hepatocitos. Una vez que la concentración hepática del glucógeno alcanza un 5 a 6%, ésta se inhibe y previene la síntesis continuada de glucógeno. A continuación, toda la glucosa adicional que ingrese en el hepatocito está disponible para la síntesis de grasa. Primero, la glucosa se

transforma en piruvato por la vía glucolítica, y el piruvato se convierte después en acetil coenzima (acetil-CoA), el sustrato para la síntesis de los ácidos grasos.

Con el ciclo del ácido cítrico se forma un exceso de iones citrato e isocitrato, cuando se utilizan cantidades exageradas de glucosa con fines energéticos. Estos iones ejercen después un efecto directo de activación de la *acetil-CoA carboxilasa*, enzima necesaria para carboxilar la acetil-CoA y formar malonil-CoA, como en la primera etapa de la síntesis de ácidos grasos.

Casi todos los ácidos grasos se sintetizan, después, dentro del propio hepatocito y se emplean para formar triglicéridos, la forma habitual en que se deposita la grasa. Estos se liberan desde los hepatocitos a la sangre con las lipoproteínas. La insulina activa la *lipoproteína lipasa* de las paredes capilares del tejido adiposo, que hidroliza de nuevo los triacilglicéroles hacia los ácidos grasos, requisito para su absorción en las células adiposas, donde se transforman de nuevo en triglicéridos y se almacenan.

La insulina cumple otros dos efectos importantes, necesarios para que se deposite la grasa en las células adiposas. *La insulina inhibe la acción de la lipasa sensible a esta hormona.* Esta es la enzima que hidroliza los triacilglicéroles ya depositados en las células adiposas. Así pues inhibe la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo hacia la sangre circulante. *La insulina fomenta el transporte de glucosa a las células adiposas a través de la membrana celular* de la misma forma que el transporte hacia los miocitos. Parte de la glucosa se emplea después para la síntesis de diminutas cantidades de ácidos grasos, pero lo que es más importante, también se forman grandes cantidades de alfa-glicerol-fosfato. Esta sustancia suministra glicerol que se une con los ácidos grasos para dar los triglicéridos, forma en que se deposita la grasa en las células adiposas. Así pues, cuando falta insulina, se bloquea incluso el depósito de grandes cantidades de los ácidos grasos transportados desde el hígado con las lipoproteínas.

Efecto de la insulina sobre el metabolismo de las proteínas

En las horas que siguen a una comida, si la sangre circulante contiene un exceso de nutrientes, no sólo se depositan carbohidratos y grasas en los tejidos, sino también proteínas; para ello se requiere la insulina. El modo en que la insulina facilita el depósito de proteínas.

Daño a proteínas por radicales libres

Las peroxidaciones inducida por radicales libres son la clave de las modificaciones químicas y estructurales de biomoléculas, incluyendo proteínas circulantes como la insulina hormona proteica susceptible a daño por radicales libres aumentados en el estrés oxidante propio de la obesidad como se explico previamente.

En cuanto al daño generado por RL en las proteínas en general se producen una modificación covalente de las proteínas que puede ser en los aminoácidos metionina, triptófano, fenilalanina, tirosina, cisteína, leucina, valina, lisina, arginina, prolina que son las mas susceptibles a daño por RL. La modificación de las cadenas laterales de estos aminoácidos pueden generar modificaciones en la estructura y función de las proteínas⁽⁸⁶⁾, o la fragmentación química, o el incremento en la susceptibilidad a la proteólisis.

El radical libre HO^{*} interviene en la hidroxilacion de algunos residuos de tirosina y fenilalanina formando derivados reducidos como el catecol 3,4 hidroxifenilalanina que unido a proteína en presencia de metales de transición forma ortoquinonas. La formación de ditirosinas es el resultado del ataque de los radicales hidroxilo a las tirosinas y la nitración de estas es el resultado del daño por especies reactivas de nitrógeno.

Entonces, estructuralmente la hormona proteica insulina de los 51 aminoácidos que componen a la insulina 28 residuos son susceptibles a daño por las especies reactivas. Al exponer la insulina a los radicales HO^{*} las cadenas laterales de las 3

moleculas de fenilalanina (ver figura 2) en los sitios 1, 24,25 de la cadena β de la insulina se hidrolizan y se convierten en tirosinas probablemente como ortotirosinas, metatirosinas o paratirosinas, las dos tirosinas presentes en la cadena β (β 16-26) asi como las dos de la cadena α (α 14-19) (ver figura 2) y las formadas por la hidroxilacion de las fenilalaninas, que presentan una hidroxilacion adicional dando lugar a la formación de 3-4-hidroxifenilalaninas que en presencia de cobre forman ortoquinonas. Las tirosinas hidroxiladas también pueden formar ditirosinas y en esta fase hay exposición de grupos carbonilos.

Estos hallazgos muestran evidencia solida de los cambios químicos y estructurales de la insulina por radicales libres que dan como consecuencia la perdida de su función biológica.

I.5. Intervenciones para disminuir el Estrés oxidativo en la obesidad

I.5.a. Antioxidantes

La producción y acción de estas ERO y RL son reguladas por los sistemas antioxidantes en los organismos. En bioquímica inorgánica un antioxidante puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxido-reducción. Los antioxidantes han sido clasificados de diferentes maneras, la más utilizada es la que establece las diferencias de acuerdo con la estructura química y función biológica, dividiéndolos en enzimáticos y no enzimáticos ^(87,88).

Las defensas antioxidantes consisten primeramente en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos capaces de efectuar la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios. Esto lo logra, con una gran eficiencia, el sistema citocromo-oxidasa, el cual reduce más del 90% del oxígeno en el organismo humano. En segundo lugar están algunas enzimas especializadas como la

superóxido dismutasa (SOD) ^(89, 90,91), la catalasa (CAT) ⁽⁹²⁾ y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) entre otras.

Además de las enzimas mencionadas, hay un gran número de compuestos que poseen propiedades antioxidantes. El glutatión en su forma reducida (GSH), algunos minerales como selenio, zinc y cobre, o vitaminas como riboflavina, ácido ascórbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), carotenos y bilirrubina entre otros, los cuales son esenciales para la defensa contra el daño oxidativo debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes o como atrapadores de radicales libres endógenos ⁽⁹³⁾.

I.5.b. Ejercicio

Otro mecanismo que disminuye el estrés oxidativo y el daño que puede causar es el ejercicio al inducir la actividad de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa). Por definición la actividad física se presenta cuando los músculos esqueléticos producen un movimiento, y el ejercicio es la actividad física planeada, estructurada, repetitiva. Su objetivo es el mantenimiento de la condición física, cuya finalidad es mantener la forma cardiorrespiratoria, estiramiento muscular, composición corporal, y flexibilidad. El ejercicio físico regular es importante para controlar el peso corporal, de hecho, la realización regular de ejercicio físico para controlar la obesidad ha sido ampliamente aconsejada desde siempre. La obesidad exógena es el problema metabólico más frecuente y en su génesis y mantenimiento siempre existe un balance energético positivo, con menor gasto calórico que el obtenido por la ingesta. La escasa actividad física suele ser un factor importante en este menor gasto. El tipo de sustratos consumidos para producir el adenosin trifosfato (ATP) necesario durante el ejercicio está en función de la intensidad y, especialmente, de la duración del ejercicio. Si se incrementa el gasto energético mediante un aumento de la actividad física y una ingesta calórica por debajo de las necesidades calóricas totales, se produce una pérdida de peso corporal y, casi exclusivamente, de la masa grasa. Hay que tener en cuenta que se requiere un esfuerzo físico considerable para gastar un número importante de

calorías. Para obtener la energía que el músculo precisa para la actividad física, se emplean preferentemente las reservas de glucógeno muscular y la energía proporcionada por la dieta rica en glúcidos. Sin embargo, hay que recordar que los músculos suelen consumir también grandes cantidades de ácidos grasos y derivados, tales como el ácido acetoacético, para obtener energía, y también pueden consumir, en mucha menor proporción, aminoácidos. Se ha observado que la mayor parte de la energía se deriva de los carbohidratos durante los primeros minutos del ejercicio, pero que, en el momento en que sobreviene el agotamiento del glucógeno muscular, se extrae del 60 al 85% de la energía de las grasas.

Según la intensidad de la actividad física y su duración, se pueden estimar cuáles son los sistemas energéticos que se emplean para cada actividad, por lo tanto se requiere determinar, el volumen, la intensidad y la duración de la actividad física, para mejorar la salud y la calidad de vida. El volumen es entonces el total de energía expedida en la actividad física y la intensidad es el rango de energía expedida durante dicha actividad, y esto se define en términos absolutos o relativos. La intensidad absoluta se expresa en equivalentes metabólicos METs ($1 \text{ MET} = 3.5 \text{ mL O}_2/\text{kg}/\text{min}$), La intensidad relativa se refiere al porcentaje de energía aeróbica utilizada durante el ejercicio, determinada por el porcentaje del $\text{VO}_2 \text{ max}$. Al realizar actividad física de una intensidad moderada su intensidad relativa es del 40 al 60% del $\text{VO}_2 \text{ max}$ y la absoluta serían 4-6 METs. En la actividad física de intensidad vigorosa la intensidad relativa es más del 60% del $\text{VO}_2 \text{ max}$ y la absoluta es más de 6 METs⁽⁹⁴⁾. Otra forma de determinar el volumen de la actividad física es por medio de la frecuencia cardíaca (FC) que es el número de contracciones del corazón por minuto. Es fundamental saber su valor y variación por su utilidad en la dosificación del ejercicio. La frecuencia cardíaca máxima es la frecuencia máxima (teórica) que se puede alcanzar en un ejercicio de esfuerzo sin poner en riesgo la salud, siempre y cuando existan condiciones físicas óptimas. Se sugiere que durante la actividad deportiva la frecuencia cardíaca ideal (FCI) debe estar entre el 60% y el 80% de la frecuencia cardíaca máxima. La fórmula para calcular la frecuencia cardíaca máxima (FcMax) es $220 - \text{edad}$. Para las personas con obesidad el rango y el porcentaje de la intensidad respecto a la

frecuencia cardíaca máxima (FcMax) debe ser del 60 al 70%. En este rango ya se empiezan a producir adaptaciones que serán más importantes en función de la calidad y de la cantidad de trabajo que se realice. En este rango el metabolismo energético se lleva a cabo a partir de los ácidos grasos y carbohidratos. Si el nivel de intensidad es elevado la utilización de los hidratos de carbono es mayor. Este rango es recomendado para mantenimiento físico y salud. Se ha mostrado el efecto benéfico del ejercicio aeróbico moderado sobre la composición corporal y sobre el gasto energético total diario. Por ello, diversas sociedades científicas recomiendan que los adultos deban realizar al menos 30 min diarios de actividad física de intensidad moderada, preferentemente todos los días de la semana. Sin embargo, estas recomendaciones no se ajustan a las necesidades de los pacientes obesos. En este contexto, la Asociación Internacional para el Estudio de la Obesidad (IASO) hace 2 recomendaciones : la primera hace referencia a la necesidad de realizar 45-60 min de actividad física diaria (315-420 min/semana) como medida preventiva para evitar que las personas con sobrepeso puedan evolucionar hacia la obesidad, y la segunda, que va dirigida a las etapas de mantenimiento del peso perdido, propone dedicar de 60 a 90 min diarios (420-630 min/semana) a la realización de actividad física de intensidad moderada, para evitar la recuperación del peso perdido.

Actividad física y estrés oxidativo

El equilibrio radicales libres/estrés oxidativo cambia en diferentes circunstancias por ejemplo, con la obesidad la inflamación se genera por la liberación de mediadores que aumentan la producción de radicales libres⁽⁹⁵⁾. Otra de esas circunstancias es el ejercicio. En general se puede decir que el ejercicio genera estrés oxidativo; sin embargo la modulación de la producción de radicales libres y de antioxidantes endógenos durante el ejercicio es compleja y depende de diferentes factores como tipo y duración de ejercicio, edad, género, dieta, estado de salud.

Para luchar contra la acción de las ERO producidas por el ejercicio el músculo esquelético ha desarrollado un número de diferentes mecanismos endógenos, los

cuales se adaptan rápidamente tras un periodo de ejercicio. Estos incluyen abundantes cambios estructurales y bioquímicos, tales como el aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes.

En el ejercicio aumenta el consumo de oxígeno, lo que potencialmente puede aumentar el estrés oxidativo. Durante el ejercicio aeróbico, el consumo de oxígeno aumenta 10 a 20 veces en el organismo completo y 100 a 200 veces en el músculo esquelético ⁽⁹⁶⁾. Se ha postulado que entre las fuentes de estrés oxidativo en el ejercicio se encuentran la liberación de electrones en la cadena de transporte mitocondrial, el aumento de actividad de la xantino oxidasa (XO), la oxidación de la hemoglobina y los neutrófilos activados ⁽⁹⁷⁾. En condiciones normales el 80 a 90% de la XO actúa como deshidrogenasa utilizando la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) como receptor de electrones. Durante el ejercicio la XO actúa como oxidasa y utiliza al oxígeno molecular como receptor de electrones produciendo radical superóxido ⁽⁹⁸⁾. El hierro no es una fuente de radicales libres pero juega un papel importante en la generación de ERO. El hierro libre permite que el radical superóxido sea convertido en radical hidroxilo. En circunstancias normales el hierro se encuentra unido a transportadores de hierro o a proteínas dependientes de hierro. Durante el ejercicio el hierro es movilizado a partir de la ferritina para ayudar en el aumento de actividad de XO. En el ejercicio excéntrico hay aumento de la movilización del hierro; esto también sucede en el ejercicio de alto impacto, en el que la movilización se facilita por la hemólisis ⁽⁹⁹⁾. Dado que el ejercicio aumenta la liberación de NO ⁽¹⁰⁰⁾ y éste a su vez (dependiendo de la concentración) puede liberar el hierro de algunas proteínas ⁽¹⁰¹⁾; es probable que este sea también un mecanismo de movilización de hierro durante el ejercicio.

Las respuestas del organismo al ejercicio dependen, como se ha mencionado antes, del tipo de ejercicio, de su duración, de la edad del sujeto, del género, de las condiciones de su salud, del entrenamiento previo, entre otros factores ⁽¹⁰²⁾. Sin embargo es un hecho demostrado que el ejercicio produce estrés oxidativo.

En las personas sedentarias el estrés oxidativo producido por el ejercicio agudo es mayor que en quienes hacen ejercicio rutinariamente ^(103,104). No se sabe a ciencia cierta porqué el ejercicio moderado, realizado durante un cierto tiempo (este período puede variar dependiendo de la edad y condiciones de salud del sujeto) lleva a la “tolerancia” o “precondicionamiento” al estrés oxidativo. Knez observó que en estas condiciones aumenta la reserva antioxidante endógena y/o disminuye la producción de radicales libres. En ocasiones estos cambios se observan inmediatamente después del ejercicio en individuos entrenados. Cases y colaboradores, observaron que en ciclistas entrenados, aumentaba los carbonilos de proteínas y el MDA plasmáticos después de una carrera prolongada, pero a la vez aumentaron los niveles plasmáticos de vitamina E y la expresión génica de SOD total en linfocitos; es decir, se producían radicales libres pero al mismo tiempo aumentaba la defensa antioxidante endógena. Los autores no comentaron si la producción de radicales libres, estimulada por el ejercicio, fue menor en los sujetos entrenados, comparados con individuos sin entrenamiento y si los niveles basales de antioxidantes eran mayores en los sujetos entrenados. Estos resultados hubieran resultado interesantes para constatar el “precondicionamiento” producido por el entrenamiento prolongado.

El mecanismo de “precondicionamiento” al estrés oxidativo producido por el ejercicio se ha estudiado parcialmente y hay varias hipótesis que lo tratan de explicar. Es probable que así como sucede en algunos casos de inflamación ⁽¹⁰⁵⁾, el acúmulo de mediadores liberados después de la activación del FN-κB, produzca retroalimentación negativa de este factor. Por otra parte, durante el ejercicio el estrés oxidativo estimula al FN-κB, con lo que se liberan citocinas pro-inflamatorias que a su vez aumentan el estrés oxidativo. Los genes de algunas enzimas antioxidantes (vg. SOD), pueden ser estimuladas por el propio FN-κB (Ji (2006) o por radicales libres ⁽¹⁰⁶⁾. De esta manera, el estrés oxidativo puede aumentar la expresión génica de las enzimas antioxidantes y con ello incrementar la defensa antioxidante endógena. En efecto, el aumento de la expresión génica, mediada por la activación de FN-κB, se ha observado después del ejercicio ⁽¹⁰⁷⁾. Este “precondicionamiento” al estrés oxidativo producido por el ejercicio potencialmente protegería al individuo de eventos agudos en los que se generen

radicales libres. Por ejemplo, Chicco y colaboradores (2006)⁽¹⁰⁷⁾, observaron que en ratas entrenadas con ejercicio de resistencia durante dos semanas, el ejercicio evitó completamente el estrés oxidativo producido por la ingesta aguda de alcohol, manifestado por aumento de MDA plasmático y disminución del potencial antioxidante plasmático. Curiosamente los niveles basales de MDA y potencial antioxidante fueron los mismos en los animales con o sin entrenamiento, es decir, las condiciones basales fueron las mismas, lo que cambió fue la respuesta ante un estímulo de estrés oxidativo. Esto es valioso porque pudiera significar que el individuo que hace ejercicio puede responder mejor a las situaciones de estrés oxidativo.

Ante el ejercicio intenso, realizado por períodos prolongados, la capacidad de adaptación al estrés oxidativo dependerá del tipo de ejercicio, de la salud del sujeto, de su dieta, edad y género. Desde luego como todo en biología, hay límites y el exceso puede llevar al agotamiento de la defensa antioxidante endógena. Se ha observado que el ejercicio intenso agudo produce estrés oxidativo demostrado por lipoperoxidación, daño al DNA, oxidación de proteínas y aumento de la susceptibilidad para que las LDL se oxiden.

El ejercicio intenso, aeróbico y de larga duración desencadena una respuesta inflamatoria muy parecida a la sepsis, manifestada por la liberación de diversas citocinas, leucocitosis y estrés oxidativo ^(108,109), durante la cual puede haber traslocación bacteriana. Se desconoce el mecanismo de la traslocación bacteriana durante el ejercicio. Como se sabe que durante el ejercicio intenso hay vasoconstricción esplácnica, se piensa que la traslocación es debida a hipoxia. Este fenómeno se ha observado en corredores de maratón o ultra-maratón y en triatletas. La respuesta inflamatoria severa se ha observado también durante el ejercicio excéntrico. García y cols⁽¹¹⁰⁾, observaron que entre 2 y 24 horas después de una sesión de ejercicio excéntrico se activa el FN-κB; esta activación coincidió con el aumento de MnSOD en polimorfonucleares. En este estudio el ejercicio excéntrico repetido no cambió la activación del FN-κB; aunque los niveles de MnSOD fueron mayores con el ejercicio repetido.

En el ejercicio anaeróbico (vg. correr a velocidad máxima), el estrés oxidativo es parecido al que se presenta durante la isquemia-reperfusión, con generación de radicales libres a través de la xantina y NADPH oxidasa, del metabolismo prostanoide, actividad respiratoria fagocítica, disrupción de las proteínas que contienen hierro y alteración de la homeostasis de calcio ⁽¹¹¹⁾. Bloomer y colaboradores ⁽¹¹²⁾ observaron que en hombres sanos con entrenamiento de por lo menos seis meses, los marcadores de estrés oxidativo (carbonilos de proteína y MDA) no cambian 24 a 48 horas después de carrera a velocidad máxima durante 10 segundos. Los investigadores postulan que durante el período de entrenamiento se logra adaptación al estrés oxidativo con aumento de la defensa antioxidante endógena; sin embargo, no midieron alguna variable relacionada con la defensa antioxidante antes del ejercicio para comprobar que está aumentada o que se trata de una mejor respuesta al ejercicio.

I.5.c. Alimentación

El desarrollo de terapias efectivas para la obesidad requiere un conocimiento de los mecanismos moleculares que controlan el balance energético.

El hipotálamo se organiza en distintas agrupaciones de neuronas, denominadas núcleos hipotalámicos, que se disponen de modo bilateral a ambos lados del tercer ventrículo. Las vías efectoras centrales que regulan el peso corporal en respuesta a la información aferente proveniente de las señales de adiposidad periféricas, tales como leptina e insulina, comprenden una red compleja de neuropéptidos que pueden dividirse en dos categorías: a) Neuropéptidos catabólicos estimulados por leptina e insulina y que promueven la pérdida de peso mediante la disminución de la ingesta y el incremento en el gasto energético, b) Neuropéptidos anabólicos, inhibidos por leptina e insulina, que promueven la ganancia de peso al ejercer acciones opuestas.

Las señales de saciedad que regulan la cantidad de alimento ingerido. Incluyen mecanismos preprandiales, como la sensación de hambre y la estimulación sensorial;

mecanismos prandiales como el comportamiento alimentario y la elección de alimentos; y mecanismos posprandiales como la saciedad ⁽¹¹³⁾.

Están relacionados con los nutrientes absorbidos, su utilización y conversión en reservas. De éstas, la insulina fue la primera señal hormonal implicada en el control de la ingesta a través del sistema nervioso central ⁽¹¹⁴⁾.

El número de potenciales metabolitos y señales periféricas indicadoras del estado metabólico del animal según un estudio experimental se ha multiplicado exponencialmente: sacietina⁽¹¹⁵⁾, adipsina⁽¹¹⁶⁾, leptina⁽¹¹⁷⁾, adiponectina⁽¹¹⁸⁾ interleuquinas y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), oleiletanolamida. Los mecanismos de acción de estos factores aún no son bien conocidos, pero se postula que, liberados a la sangre por sus órganos de origen, informarían al sistema nervioso central del estado nutricional del animal, por la interacción de factores neuroquímicos y metabólicos en el sistema nervioso central. El hipotálamo es el principal centro de integración de las señales nutricionales, como un paso crítico en la adaptación metabólica a los cambios en el balance energético ⁽¹¹¹⁾. Algunos de los circuitos hipotalámicos que regulan el balance energético también analizan la disponibilidad de macronutrientes⁽¹¹⁹⁾, ajustando señales eferentes para modificar el metabolismo de la glucosa y lípidos ⁽¹²⁰⁾. De hecho, se ha demostrado que cada preferencia dietética se puede asociar a un perfil neuropeptidérgico específico⁽¹²¹⁾, por ejemplo, el neuropéptido Y estimula preferentemente la ingesta de carbohidratos⁽¹²²⁾, mientras que la galanina, cuyo principal lugar de secreción es el núcleo paraventricular ⁽¹²³⁾ y las orexinas orientan la opción del alimento hacia lípidos ⁽¹²⁴⁾, siendo la relación carbohidrato-grasa un factor crítico en esta influencia ⁽¹²⁵⁾.

La norma oficial mexicana para el manejo integral de la obesidad (NOM-174)⁽¹²⁶⁾ contempla varias modalidades una de ellas es la dietoterapia, en cuanto al tratamiento dietético se han propuesto varias estrategias, en esta variedad de dietas, cada una de ellas tiene características diferentes, las más usuales para el tratamiento integral de la obesidad con fundamento científico, comprenden dietas hiperproteicas, ricas en fibra e

hipocalóricas, en el caso de las dietas hipocalóricas se busca un balance energético negativo, y un adecuado suministro de nutrientes, ante las diversas proporciones de los nutrientes en la dieta predominan diferentes vías metabólicas, cuyos productos finales repercuten tanto a nivel periférico como central. La modificación de la proporción de los macronutrientes en la alimentación tiene diversos efectos; por ejemplo, una dieta alta en proteínas y baja en carbohidratos produce disminución de la ingesta de calorías y tiene efectos benéficos sobre el peso y la glucemia, aunque no se conoce del todo la explicación a este evento. Además, la adherencia de los pacientes al largo plazo usualmente es pobre ⁽¹²⁷⁾.

Para mencionar las diferentes medidas terapéuticas en relación a la dieta, una alta en carbohidratos en ratas neonatales induce inmediatamente hiperinsulinemia, la cual persiste en animales adultos sin ningún otro estímulo agregado. Más aún, la impronta metabólica forma un círculo vicioso una vez establecida, porque las madres transmiten el fenotipo alto en carbohidratos a su progenie ⁽¹²⁸⁾.

El sistema hipotalámico de las melanocortinas, incluyendo AgRP y la hormona alfa estimulante de los melanocitos (α -MSH), es uno de los circuitos involucrados en la homeostasis periférica de la glucosa ⁽¹²⁹⁾. Además, el NPY interviene tanto en el metabolismo periférico de la glucosa como de lípidos. A su vez, la apertura de los canales de potasio del núcleo arqueado, ya sea por hiperinsulinemia o disminución de la oxidación lipídica central, inhibe la señal gluconeogénica vagal eferente al hígado, promoviendo el uso de la grasa como fuente de energía ⁽¹³⁰⁾.

Tanto la presencia de carbohidratos como lípidos en el lumen del íleo distal y colon estimulan la secreción del péptido YY ⁽¹³¹⁾, miembro de la familia del NPY, producido por las células enteroendocrinas ⁽¹³²⁾, constituyéndose como una señal de feedback del intestino al hipotálamo. Por otra parte, la hiperglucemia induce estrés oxidativo mediante la producción endotelial de radicales libres ⁽¹³³⁾, y activa al factor nuclear (NF- κ B) y la proteína quinasa C, así como la formación intracelular de productos avanzados de glicación. Los ratones knockout para ChREBP (Carbohydrate

Response Element-Binding Protein), factor de transcripción que regula el metabolismo de carbohidratos en el hígado ⁽¹³⁴⁾, son intolerantes a la glucosa, resistentes a la insulina y tienen tasas disminuidas de glucólisis y lipogénesis; esto da lugar a un alto contenido de glucógeno en el hígado, bajos niveles de ácidos grasos libres en plasma y escaso tejido adiposo ⁽¹³⁵⁾.

Sabemos además que el estrés oxidativo, estrechamente asociado con obesidad, hiperglucemia y valores elevados de ácidos grasos libres, no sólo conduce a disfunción mitocondrial sino que también puede inducir factores de transcripción sensibles a la situación redox (NF- κ B y AP-1) implicados en la respuesta inmune innata; de hecho, la disrupción genética de estas vías mejora la resistencia a la insulina ⁽¹³⁶⁾. Por lo anteriormente indicado, el estrés oxidativo podría ser la causa que lleva a un estado proinflamatorio ⁽¹³⁷⁾, ya que las especies reactivas de oxígeno dañan el DNA, los lípidos, y las proteínas, conduciendo a una disrupción en la homeostasis celular y a una acumulación de moléculas defectuosas, promoviendo apoptosis, envejecimiento y disfunción inflamatoria y degenerativa ^(138,139). Por el contrario, la inhibición de la oxidación lipídica en el hipotálamo es suficiente para restaurar la sensibilidad a los lípidos y suprimir la ingesta y la producción hepática de glucosa ⁽¹⁴⁰⁾.

Durante períodos de demanda energética, los triglicéridos pueden ser movilizados rápidamente por la acción hidrolítica de las lipasas, liberando ácidos grasos que se oxidan para suplir los requerimientos energéticos del organismo. En una dieta con un elevado contenido de grasa, los péptidos orexigénicos galanina y orexinas son sobrerregulados a nivel central ⁽¹⁴¹⁾; la hiperlipidemia en ratones parece mediar una respuesta inflamatoria a través de la misma cascada por la que los lipopolisacáridos activan el sistema inmune ⁽¹⁴²⁾, y los ácidos grasos libres, probablemente a través de la proteína quinasa C ⁽¹⁴³⁾.

La sintasa de ácidos grasos regula la lipogénesis de novo a partir de acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH. Su regulación ocurre a nivel transcripcional, donde inciden la

mayoría de las señales metabólicas importantes, tales como insulina y carbohidratos ^(144,145); hormonas tiroideas, ácidos grasos ^(146,147), y esteroides.

El malonil-CoA regula la oxidación intracelular de ácidos grasos en diversos tejidos, incluyendo el sistema nervioso central ⁽¹⁴⁸⁾. Su incremento a nivel hipotalámico, por ejemplo como consecuencia de inhibir la sintasa de ácidos grasos, conduce a la supresión de la ingesta, por el contrario, el disminuir sus concentraciones con un inhibidor de la acetil CoA carboxilasa o por la expresión ectópica de malonil- CoA decarboxilasa en el hipotálamo, aumenta la ingesta y revierte la acción de los inhibidores de sintasa de ácidos grasos. Fisiológicamente, el nivel de malonil- CoA hipotalámico parece estar determinado por procesos de fosforilación/defosforilación de la acetil CoA carboxilasa por la AMP quinasa en respuesta a cambios en la relación AMP/ATP, indicadora del estado energético ^(149,150).

De los principales macronutrientes, se considera que las proteínas son un fuerte inhibidor de la ingesta en los omnívoros, presentando el mayor efecto supresor del apetito ⁽¹⁵¹⁾. De hecho, al aumentar el porcentaje proteico de la dieta del 14 al 50%, disminuye la ingesta en ratas con dieta ad libitum, y este efecto parece deberse más a un refuerzo de la saciedad que a un mal sabor o aversión condicionada a la comida ⁽¹⁵²⁾. Se piensa que las proteínas de la dieta son monitorizadas especialmente por el hipotálamo y la corteza piriforme anterior, regiones que controlan la ingesta. Debido a que en estas mismas estructuras se inicia la saciedad, las proteínas pueden ayudar a desencadenar el inicio de esta señal ⁽¹⁵³⁾.

La dieta rica en proteínas induce cambios en varias zonas del sistema nervioso central tales como el núcleo del tracto solitario, la amígdala y el hipotálamo ventromedial. Considerando las características funcionales de estas áreas se ha sugerido la implicación del nervio vago en la transmisión de la información relacionada con la cantidad de proteínas ingeridas ⁽¹⁵⁴⁾.

Asimismo, se ha sugerido la implicación del polipéptido pancreático, pues su liberación es baja durante el ayuno y se incrementa durante todas las fases de la digestión⁽¹⁵⁵⁾, constituyendo la ingesta de proteínas y grasas el principal estímulo de su secreción, aunque también sea liberado por la acción de otras hormonas tales como ghrelina, motilina y secretina, siendo inhibida su secreción por la somatostatina. El polipéptido pancreático ejerce su acción sobre receptores específicos (Y1-Y5) y exhibe acción inhibitoria sobre la secreción pancreática y motilidad intestinal. Además, la infusión en humanos reduce tanto el apetito como la ingesta sin cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de ghrelina, péptido YY, GLP-1, leptina e insulina⁽¹⁵⁶⁾.

En el caso de los micronutrientes estos han sido menos estudiados, por ejemplo el magnesio, afecta a numerosos procesos biológicos modulando la progresión del ciclo celular, diferenciación y proliferación; como cofactor de diversas enzimas modula el metabolismo energético, la oxidación de carbohidratos y el transporte de glucosa a través de la membrana celular⁽¹⁵⁷⁾ además de regular la secreción de insulina, su unión al receptor y su actividad⁽¹⁵⁸⁾. El calcio, por su parte, disminuye la absorción intestinal de grasa, lo que contribuye a disminuir las concentraciones séricas de colesterol⁽¹⁵⁹⁾. Además se ha estudiado los micronutrientes con capacidades antioxidantes ver tabla 5

Tabla 5. Micronutrientes antioxidantes.

Vitamina C	Reacciona con el anión superóxido
Vitamina E	Reacciona con el anión superóxido
Betacaroteno	Neutraliza el anión superóxido
Selenium	Constituyente de la glutatión peroxidasa
Cobre	Constituyente de la SOD ceruloplasmina
Zinc	Constituyente de SOD citosólico
Manganeso	Constituyente de la SOD, mitocondrial
Hierro	Constituyente de la catalasa

En el tratamiento de la obesidad el plan de alimentación y la actividad física son pilares fundamentales para conseguir un balance energético negativo. La restricción energética va de 500 a 1.000 Kcal/día respecto a la dieta habitual. Esta restricción no debería comportar un aporte calórico por debajo de 1.000-1.200 Kcal/día en mujeres y 1.200-1.600 Kcal/día en varones. En cuanto a la distribución de macronutrientes, existen notables divergencias sobre los porcentajes de ingesta más apropiados para conseguir una pérdida de peso. Por ello, el objetivo de la planificación alimentaria es conseguir que el paciente se adapte a ella durante el mayor tiempo posible y que la variedad de alimentos que se ofrezcan permita establecer una planificación educativa y mayor adherencia al plan de alimentación, de esta manera, podremos articular mejor la contribución porcentual de los macronutrientes en función de las características del paciente como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Distribución porcentual de energía y nutrientes en la planificación de una alimentación hipocalórica

Energía	Déficit de 500-600 Kcal sobre las estimaciones basales obtenidas mediante fórmulas o sobre la dieta habitual.
Hidratos de carbono (%)	45-55
Proteínas (%)	15-25
Grasas totales (%)	25-35
Saturadas (%)	< 7
Monoinsaturadas (%)	15-20
Poliinsaturadas (%)	< 7
Ácidos grasos trans (%)	< 2
Colesterol (mg)	< 200
Fibra (g)	20-30

El plan de alimentación es individualizado para respetar los gustos personales que sean compatibles con la consecución de una reducción calórica. La prescripción de la dieta se hace a partir de una anamnesis completa y adecuándola a todas las características propias del individuo.

La combinación de dieta y ejercicio acelera la pérdida de grasa, preserva o aumenta la masa magra y previene o desacelera la disminución de la tasa de metabolismo basal (TMB), más efectivamente que la dieta sola. La mayoría de los estudios publicados aportan evidencia que el ejercicio es útil en la mantención de la masa magra. En pacientes que perdieron en promedio 10 kg. de peso, la pérdida de masa magra fue entre 1,7 y 2,9 kg. menor en el grupo con actividad física que en el grupo inactivo.

Además de este efecto protector sobre la masa magra, se ha establecido que el ejercicio acelera la pérdida de masa grasa durante la restricción dietaria, independiente de los cambios en la masa magra.

Estudios efectuados en personas sometidas a severa restricción dietaria muestran que la respuesta adaptativa de la TMB contra la pérdida de peso, contrarresta los efectos estimulantes del ejercicio sobre la TMB. Es por ello que la interacción entre ejercicio y restricción dietaria es mejor en condiciones de restricción dietaria moderada que en severa, en la que tiende a desaparecer.

Dentro de las estrategias para mantener el peso después de haber conseguido una reducción, el ejercicio físico constituye una importante herramienta. Se ha demostrado que un gasto energético de aproximadamente 1500 kcal por semana o más permite mantener disminuciones de peso significativas al cabo de 2 años.

Este fenómeno está explicado por la mantención de la capacidad de consumo de oxígeno adquirida durante el proceso de entrenamiento. R. Shephard de la Universidad de Toronto, ha demostrado que un alto porcentaje (más del 55%) de las personas

sedentarias sometidas a los programas de actividad física tradicional (gimnasios), no adquieren efectos fisiológicos significativos por la falta de un mejoramiento mantenido de la condición física. Se ha fijado en 2200 kcal el monto de energía semanal que se debe gastar en entrenamiento físico para lograr los beneficios en la salud. Este gasto debe provenir de un metabolismo aeróbico en un 60% y del metabolismo anaeróbico un 40%. Estudios experimentales a nivel nacional, muestran cambios significativos en los perfiles de salud y mayor adherencia al programa de modificación del estilo de vida, cuando la carga de entrenamiento alcanza el 60% anaeróbico y 40% aeróbico.

Prescripción del ejercicio en obesos

Junto a una restricción dietaria, el componente fundamental en el tratamiento de la obesidad es el ejercicio físico, siempre y cuando sea llevado a cabo de una manera dosificada, sistemática y con cargas de trabajo adecuadas a la condición física de cada paciente obeso. La evidencia muestra que un balance energético negativo mantenido por varios meses, donde se incluye un aumento del gasto energético, es mucho más efectivo en disminuir la grasa corporal. Además, se produce un aumento de la masa magra, que afecta tanto la TMB como el gasto total. Para lograr los beneficios mencionados, la actividad física debiera generar al menos un gasto energético adicional diario de aproximadamente 200 kcal, lo que equivale aproximadamente a caminar unos 3 km a paso normal. Si se considera que un sujeto gasta aproximadamente 1 kcal /kg de peso/ km trotado y 0.5 kcal por km caminado, un sujeto de 120 kilos gastara 60 kcal por cada km que camine, es decir 180 kcal en 3 km. Esto sin embargo no es fácil de poder lograr en el sujeto con sobrepeso en una primera etapa de su plan de entrenamiento.

Considerando que la actividad física no es popular entre los obesos, esperar una disminución de peso significativa solamente a través de ejercicios intensos y de larga duración que produzcan un gran gasto energético es irreal. Sin embargo, en el proceso es necesario introducir la práctica de ejercicios, de alta intensidad, adecuados a las capacidades individuales y supervisado de manera personalizada, para que se logre acondicionar la estructura corporal, realizar los movimientos biomecánicos correctos y alcanzar los efectos metabólicos deseados. Aunque la prescripción de ejercicio de mayor intensidad se asocia en general a menor adherencia, Tremblay y cols, demostraron lo contrario en obesos sin problemas cardiovasculares ni músculo-esqueléticos u osteoarticulares y con estilos de vida activos, donde fue factible incrementar la intensidad de la actividad paulatinamente hasta llegar a 70-75% del VO_2 máximo.

Para individuos obesos, lo más práctico es recomendar sesiones cortas (5 min.) y frecuentes (>4 veces por día). El ejercicio puede ser de carácter continuo o intermitente. Este último, es más adecuado ya que se puede lograr un mayor gasto energético con una menor acumulación progresiva de ácido láctico. Aumentar la intensidad del ejercicio es importante ya que produce importantes beneficios, como reducción en la adiposidad, aumento del potencial oxidativo de los músculos, reducción de la ingesta compensatoria post-ejercicio y un aumento de los efectos sobre la TMB.

Cabe hacer notar que en todos los sujetos debemos considerar el fenómeno de adaptación de cada individuo. Cada persona responde al entrenamiento de manera diferente aún frente a una misma carga de trabajo o nivel de entrenamiento. Estas diferencias se evidencian en el tiempo de respuesta (rápida o lenta) o en la magnitud del cambio (grande o pequeño). En las personas obesas se deben manejar cargas de trabajo que mejoren la calidad de las estructuras musculares y articulares, lo que implica ejercicios de sobrecarga o con pesos adicionales sobre diversas palancas, que permiten a su vez optimizar el entrenamiento.

La intensidad, frecuencia y duración del ejercicio puede y debe irse ajustando de acuerdo a los progresos que el paciente vaya experimentando, con el fin de lograr un nivel de exigencia sostenido en el tiempo. De ahí la importancia de establecer un plan de actividad física individualizado de acuerdo a las características propias de cada individuo.

1.6. Antecedentes inmediatos a este trabajo.

Bajo circunstancias normales en los organismos aerobios se presenta un balance entre la formación-neutralización de especies reactivas de oxígeno (ERO). El estrés oxidativo se presenta cuando la formación de oxidantes excede la habilidad de los sistemas antioxidantes para neutralizar ERO, resultando un desbalance oxido-reducción que genera modificaciones en las biomoléculas (oxidación de lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos).

En la actualidad numerosos estudios han asociado este daño molecular por estrés oxidativo con diversas patologías, como: cáncer, insuficiencia renal aguda, hipertensión arterial, cirrosis, síndrome de ovario poliquístico, diabetes tipo 2, aterosclerosis, resistencia a la insulina y obesidad entre otras.

Las biomoléculas dañadas por ERO no solo muestran un cambio estructural y funcional, también participan en algunos procesos patológicos. El ejemplo más claro de esto es la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDLox), esta lipoproteína participa en la formación de las células espumosas, las cuales cobran gran importancia en el desarrollo de la placa de ateroma en pacientes obesos.

Tomando en cuenta que la insulina es otra proteína circulante como la LDL, nuestro grupo de trabajo Olivares y colaboradores (2005a, 2005b)⁽¹⁶⁰⁾ propuso, que la hormona peptídica insulina también es susceptible a oxidarse, adquiriendo cambios en

su estructura y función. Nosotros utilizamos la reacción de Fenton para generar los radicales libres Hidroxilo (HO^\bullet) en presencia de insulina humana recombinante, midiendo los cambios químicos de su estructura molecular. Los cambios inducidos en la insulina fueron: a) un incremento significativo sobre la absorbancia (280 nm) debido a la hidroxilación de las fenilalaninas, b) formación de quinonas, c) incrementada concentración de grupos carbonilos libres, d) formación de ditirosinas y c) modificación de los epítomos de la insulina, decrementando la reactividad antígeno-anticuerpo medida como decremento en la concentración de insulina por radioinmunoanálisis (RIA). Todas estas modificaciones fueron relacionadas con la pérdida de la actividad biológica, evaluada midiendo la utilización de $\text{U-}^{14}\text{C}$ -glucosa por el tejido adiposo humano en un sistema de radiorespirometría.

Con estos resultados, posteriormente propusimos y demostramos que la sangre de pacientes con diabetes tipo 2 tiene la capacidad de oxidar a la insulina y de disminuir la función de esta hormona ⁽¹⁶¹⁾ en un 40%. Esto fue posible considerando a la sangre de este tipo de paciente como un sistema productor de ERO (macrófagos, leucocitos y plaquetas) ⁽¹⁶¹⁾, aunado a un sistema antioxidante que se encuentra reducido (enzimas eritrocitarias y agentes antioxidante).

Un efecto similar se observa cuando insulina es expuesta a la sangre de pacientes obesas grado I (De acuerdo a la OMS grado 1 de 30.0-34.9 kg/m^2 de IMC) (artículo enviado para su publicación a la revista *Free Radicals Biology and Medicine*). Esto fue de gran importancia debido a que la obesidad es por lo general un paso previo al desarrollo de Diabetes Mellitus, la cual es una enfermedad crónica, no curable y solo controlable. Si tomamos en consideración que la obesidad es controlable, se podrían plantear estrategias terapéuticas preventivas dirigidas a un proceso que existe en común en ambas enfermedades como es la resistencia a la insulina.

Con respecto a la resistencia a la insulina, se caracteriza por la disminución de la acción de la insulina, que implica una respuesta biológica subnormal a las acciones de la hormona en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos ⁽¹⁶⁷⁾. Las bases

moleculares y celulares para explicar la resistencia a la insulina son multifactoriales, como: disminución del número de receptores de insulina y de su función; y defectos post-receptor causados por un mal acople entre hormona y receptor, entre otras. Es importante mencionar que este evento se ha asociado ampliamente con diversas alteraciones a nivel celular, que involucran a la célula receptora o productora de la hormona ⁽¹⁶⁸⁾, sin embargo no existen evidencias que planteen la posibilidad de una insulina no-funcional.

En el caso de la insulina expuesta a sangre de mujeres obesas, además de demostrarse que se modificaba química y funcionalmente como cuando fue expuesta a la sangre de pacientes Diabéticos, también se pudo demostrar que la disminución de la función de la hormona fue debido a la formación de complejos peptídicos (polímeros) de aproximadamente 18 KDa. Estos complejos fueron detectados mediante un análisis electroforético, con geles de poliacrilamida no desnaturalizantes. También se pudo purificar este polímero. De hecho la pérdida total de la función hipoglicemiante del polímero purificado, habla de un mal o nulo acople de la insulina con su receptor. Estos polímeros se formaron posiblemente por: a) la formación de aductos entre los grupos amino libres en la insulina y los grupos aldehído del producto de lipoperoxidación como el malondialdehído (MDA); b) la formación de radicales tiilo generados por el rompimiento de puentes disulfuro intercatenarios Cis (A7-B7) y Cis (A20-B19) e intracatenarios Cis (A6-B11) por acción de otros radicales libres (HO^\bullet), estos radicales tiilo para estabilizarse reaccionaron con otro radical tiilo formando nuevamente un puente disulfuro, sin embargo este nuevo puente pudo ser formado entre cadenas diferentes a las originales; y c) la formación de ditirosinas entre radicales tirosilo generados por el ataque directo de radicales HO^\bullet a residuos de tirosina. Los dímeros de ditirosinas se generaron entre los tirosilos formados en las tirosinas A14, 19 y B16, 26 intra molecular o entre moléculas de insulina.

Es muy probable que en los cambios químicos y estructurales observados estén involucrados los aminoácidos fenilalanina en la posición 24 y 25 de la cadena B y la tirosina en la posición 16 de la cadena B, los cuales juegan un papel muy importante en el sitio de unión de la insulina con su receptor ⁽¹⁶²⁾.

2. PROBLEMA, HIPOTESIS Y OBJETIVOS

II.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tomando en cuenta que una mala alimentación y el sedentarismo conlleva a la obesidad la cual es una enfermedad que cursa con estrés oxidativo (EO) y daño a biomoléculas que está relacionado con sus complicaciones como daño endotelial, resistencia a la insulina. En este trabajo se plantea la posibilidad de que este daño a biomoléculas por estrés oxidativo presente en las pacientes obesas se vea disminuido, así como la polimerización de la insulina recombinante humana (IRH), en mayor medida al aplicar de manera simultánea una dieta hipocalórica y actividad física controlada (ejercicio aeróbico moderado).

III. OBJETIVO E HIPOTESIS

El presente trabajo tuvo como objetivo general evaluar si los tratamientos con dieta hipocalórica y/o la dieta más ejercicio aeróbico moderado tienen la capacidad de disminuir la oxidación de la insulina recombinante humana (IRH)

Los objetivos particulares fueron:

- Determinar el estado de estrés oxidativo en plasma de las pacientes obesas antes y después del tratamiento con dieta hipocalórica, y ejercicio aeróbico moderado.
- Evaluar las modificaciones químicas y estructurales de la insulina recombinante humana, inducidas por el estrés oxidativo presente en la sangre de mujeres obesas antes y después del tratamiento con dieta hipocalórica y ejercicio aeróbico moderado.

La hipótesis de trabajo fue: La dieta hipocalórica y/o la dieta con ejercicio aeróbico moderado disminuyen el estrés oxidativo sistémico en las obesas, por lo tanto la capacidad oxidante de la sangre de estas pacientes disminuye, dando como consecuencia una disminución en la oxidación de la IRH.

3. JUSTIFICACION

IV. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo se justifica por varios motivos. Uno es que hasta hace poco, se pensaba que en las enfermedades relacionadas con la resistencia a la insulina, solo intervenían la falta de insulina o que los tejidos dependientes de ella no respondían por diferentes causas, sin embargo nuestro grupo de investigación demostró por primera vez que además de lo anterior, también la insulina puede ser modificada química y estructuralmente debido a que se encuentra expuesta al estrés oxidativo por el que cursan los pacientes obesos y diabéticos, lo cual es un evento más posiblemente involucrado en el mecanismo de la resistencia a la insulina.

Otro motivo es que en México se estima que el costo para la atención de pacientes obesos se incrementa de tres a cinco veces en comparación con pacientes con un rango de peso normal. Además el tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 y de la hipertensión arterial (consecuencias de la obesidad) es de por vida, al igual que su costo. El costo exclusivo de los medicamentos para el control de la hipertensión arterial y de la diabetes es considerable, varía de acuerdo al tratamiento y a sus complicaciones, además la calidad de vida se afecta en forma considerable.

Por lo tanto si la dieta hipocalórica y ejercicio moderado disminuyen la oxidación de la insulina, también sería un aporte más para explicar cómo es que una buena alimentación y la actividad física participan en la prevención de la resistencia a la insulina y se le podría dar un mejor tratamiento al paciente. También es de gran importancia considerar la posibilidad de desarrollar un método de diagnóstico o de detección temprana que permita detectar personas con formación de polímeros de insulina y que permita ofrecerles un tratamiento oportuno, coadyuvando con dieta y ejercicio.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Establecer con seguridad la magnitud de la participación de los radicales libres de oxígeno y nitrógeno en la patogénea de las enfermedades es difícil, en virtud de su corta vida media (Ver tabla 4). Resulta casi imposible medirlos in vivo particularmente para fines clínicos, por lo que se recurre a métodos indirectos centrados principalmente en la medición de enzimas antioxidantes, determinando el daño o productos finales de las reacciones de los radicales libres con lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, determinaciones que pueden realizarse en sangre, orina, fluidos o tejidos.

V.1.Tipo de estudio

Longitudinal, Prospectivo, de intervención deliberada tipo ensayo clínico controlado y aleatorizado. (ANEXO I)

VARIABLE INDEPENDIENTE:

- Tratamiento con dieta o dieta mas ejercicio

VARIABLE DEPENDIENTE:

- Malondialdehído (MDA), Ditirosinas, Carbonilos, grupos SH.

V.2.Conformación de los grupos

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- a) Pacientes con IMC >30 y < 35 (obesidad grado 1).
- b) Para el grupo control pacientes con un IMC normal $< a 25$
- b) Mujeres
- c) De 34 a 44 años
- d) Que aceptaron entrar al estudio por medio de carta de consentimiento.

Criterios de no inclusión: (ANEXO II)

1.- La presencia de cualquier patología activa: Diabetes tipo 1 o tipo 2, infección activa (VIH, hepatitis) cáncer, hipertensión, hipotiroidismo, dislipidemia, etc.

2.- Tratamiento previo a obesidad en el último mes.

3.- Suplementación con antioxidantes en el último mes.

Criterios de eliminación:

- Que el paciente deseara abandonar el estudio en cualquier momento.
- No cumplir con el tratamiento indicado

Conformación de los grupos para los tratamientos

Se formaron tres grupos. Se consideró el IMC, para clasificar a las pacientes de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS)

Grupo control (CT). IMC normal. Este grupo se tomó como parámetro de referencia de un estado basal oxidativo y el objetivo a lograr con las intervenciones terapéuticas.

El grupo 1 comprendió dieta hipocalórica (D),

el grupo 2 dieta hipocalórica y actividad física aeróbica (DE) aeróbica moderada.

Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra se estimó para cada grupo con la fórmula para un estudio comparativo de dos promedios.

Se tomó como referencia el valor obtenido de grupos carbonilo, de un estudio previo realizado en población mexicana⁽¹⁶³⁾.

- **Promedio (M)** = 0.602 nmol de osazona/mg proteína
- **Desviación estándar (σ)** = 0.043 nmol de osazona/mg proteína
- **Error α** = 95% de confianza para prueba bilateral
- **Error β** = 80% de potencia estadística
- **Diferencia esperada (DE)** = 10%
- **Tamaño del efecto (TE)** = DE x M

$$TE = 0.1 \times 0.602$$

$$TE = 0.0602$$
- **Estandarización del TE (ETE)** = TE / σ

$$ETE = 0.0602 / 0.043$$

$$ETE = 1.4$$

Se traspolo este valor en la tabla siguiente (tabla7):

Tabla 7. Tamaño de la muestra por grupo en un estudio comparativo de dos promedios.

α 1 cola	0.005			0.025			0.05		
2 colas	0.01			0.05			0.10		
β E/S	0.05	0.10	0.20	0.05	0.10	0.20	0.05	0.10	0.20
0.10	3563	2977	2337	2599	2102	1570	2165	1713	1237
0.15	1584	1323	1038	1155	934	698	962	762	550
0.20	891	744	584	650	526	393	541	428	309
0.25	570	476	374	416	336	251	346	274	198
0.30	396	331	260	289	234	174	241	190	137
0.40	223	186	146	162	131	98	135	107	77
0.50	143	119	93	104	84	63	87	69	49
0.60	99	83	65	72	58	44	60	48	34
0.70	73	61	48	53	43	32	44	35	25
0.80	56	47	36	41	33	25	34	27	19
0.90	44	37	29	32	26	19	27	21	15
1.0	36	30	23	26	21	16	22	17	12

Resultó un valor del tamaño de la muestra por grupo de 16 individuos.

V. 3. Parámetros antropométricos

Peso, Talla

La talla se determinó como medición lineal de la distancia desde el piso o superficie plana hasta el vértex, mediante una báscula clínica con estadiómetro, cuidando que los talones estuvieran unidos por los ejes longitudinales de ambos pies y en un ángulo aproximado de 45°; los brazos colgaban libre a lo largo del cuerpo; la cabeza se orientó en el plano de Frankfort (figura 4), corrigiendo la postura con la

maniobra de Tanner, la lectura se reportó en centímetros (cm) y el peso en Kilogramos (Kg) (Comité de expertos de la OMS (1995).

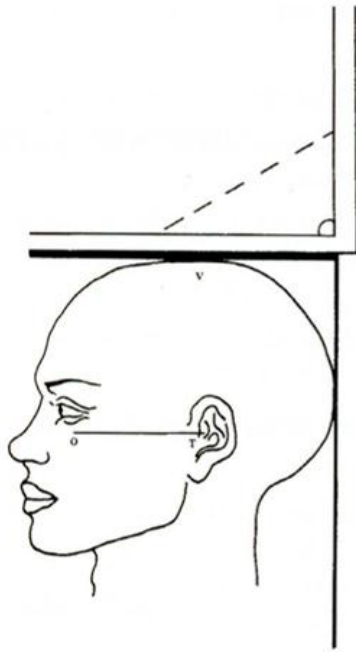


Figura 4. Plano de Frankfort.

Fuente: Cuadernos de Nutrición, 2001

Índice de Masa Corporal (IMC)

Este indicador se obtuvo de dos dimensiones corporales, el peso expresado en kilogramos, y la talla expresada en metros y elevada al cuadrado, se calculó dividiendo el peso (kg), entre la talla en metros al cuadrado, determinado por la siguiente fórmula: Peso/talla^2 . Este índice fue empleado, con fines clasificatorios, para reflejar la obesidad general ⁽¹⁶⁴⁾.

Cintura-cadera

Las medidas de adiposidad central, se realizaron con el paciente de pie, con los pies juntos y tomando como referencias las estructuras óseas, las medidas fueron realizadas por el mismo explorador.

La circunferencia de la cintura que proporciona información sobre niveles de tejido adiposo visceral (TAV) en la región abdominal, el cual al acumularse en exceso, tiene un efecto deletéreo sobre el metabolismo de glucosa y lípidos, es utilizada para identificar de manera sencilla a personas con mayor riesgo a padecer alteraciones metabólicas ⁽¹⁶⁵⁾. Se midió pasando una cinta métrica por el punto medio entre la cresta iliaca ánterosuperior y el margen de la última costilla y al final de la espiración, según la técnica descrita por Callaway ⁽¹⁶⁶⁾ el resultado se reporto en cm.

La circunferencia de la cadera se midió de pie, en esta posición se identifico el punto máximo del perímetro de los glúteos y en la mayor circunferencia a la altura de los trocánteres, se realizo la medición en el plano horizontal, sin comprimir, el resultado se reporto en cm.

Índice Cintura Cadera (ICC)

Este método se utilizó para evaluar la distribución de la grasa corporal, este índice se obtuvo de la división de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera $ICC = \text{perímetro de la cintura (cm)} / \text{perímetro de la cadera (cm)}$ ⁽¹⁶⁷⁾, cuando el resultado es superior a 1.0 en hombres, y 0.8 en mujeres (adiposidad central), este indicador es utilizado como predictor de alteraciones orgánicas secundarias a la obesidad, con una asociación positiva con enfermedades crónicas y riesgo a enfermedades cardiovasculares ⁽¹⁶⁸⁾.

% de grasa

Se determinó por medio de impedancia bioeléctrica TANITA.
Esto se realizó antes y después de los tratamientos.

V.4.Tratamientos

V.4.a. Dieta

La dieta fue designada y vigilada por un médico y una nutrióloga de manera personalizada, según la norma Oficial Mexicana para el manejo y control de la obesidad NOM-174⁽¹⁶⁹⁾. La dieta se prescribió de manera individualizada a partir de la historia clínica nutricional (ANEXOIII) de modo que cada paciente recibiera 20% de restricción de calorías diarias requeridas de acuerdo con la fórmula de Harris-Benedict. La distribución nutrimental se realizó basada en los rangos recomendados por la Asociación Americana de Diabetes: Hidratos de carbono 50%, grasas 30 %, proteínas totales 20%. El plan de alimentación consistió en una prescripción de alimentos equivalentes (ANEXO V), fueron utilizadas las listas de equivalentes de alimentos de la Asociación Americana de Dietética y del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Se les asignó a las pacientes obesas un ejemplo de menús elaborado a partir del número de equivalentes requeridos para cubrir la prescripción de requerimientos de energía y distribución nutrimental.

El número de alimentos equivalentes fue distribuido en 5 tiempos de comida, que fueron 3 comidas principales (desayuno, comida y cena) y 2 colaciones (colación matutina y vespertina) (ANEXO IV).

V.4.b. Ejercicio

El ejercicio fue prescrito monitoreado por un médico del deporte, de manera personalizada, tomando en cuenta la frecuencia cardiaca máxima (FCM). Los rangos fueron determinados de forma individual, del 60% al 70% de la FCM, calculada con la fórmula $220 - \text{edad}$, la actividad física fue controlada con un pulsometro (figura 5) y realizada en una banda sin fin, sin inclinación con sesiones de 30 minutos 3 veces por semana.



Figura 5. Pulsometro para monitorear la frecuencia cardiaca.

V.I.5. Obtención y procesamiento de las muestras

Se obtuvieron muestras de sangre (8 ml) de pacientes obesas.

Dos mililitros fueron centrifugados a 3500 rpm 10 min para la obtención de plasma en el que se determinó el estado metabólico de estrés oxidativo de las pacientes, cuantificando: 1) compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) como el malondialdehído (MDA) que es un marcador de daño a lípidos, 2) dímeros de tirosina (ditirosinas), y 3) exposición de grupos carbonilos, estos dos últimos son marcadores de daño a proteína, 4) grupos SH como biomarcadores de defensa antioxidante.

Los 6 ml restantes fueron utilizados para determinar la capacidad oxidante de la sangre de las pacientes obesas sobre la insulina recombinante humana.

A partir de esta primera toma de sangre a los grupos D y DE se les aplicó el tratamiento correspondiente durante 3 meses. Al final de estos tres meses se les tomó otra muestra de sangre y se repitió el procedimiento descrito para la 1ra toma de sangre para comparar la eficiencia de cada tratamiento para disminuir el estrés oxidativo en las pacientes.

Todas las muestras fueron procesadas en el laboratorio de bioquímica inorgánica (figuras 6, 7).



Figura 6. Laboratorio de bioquímica inorganica.



Figura 7. Laboratorio de bioquímica inorganica y material.

V.I.5.a. Técnicas utilizadas para el primer objetivo.

Cuantificación de malondialdehído (MDA) en plasma.

El daño a lípidos circulantes se determinó por el método de 1-methyl-2-phenylindole. Se utilizó como estándar 1, 1, 3,3-tetrametoxipropano (Malondialdehído bis (dimetilacetal) ⁽¹⁷⁰⁾ (ANEXO VII).

Cuantificación de grupos Carbonilos en plasma

Uno de los biomarcadores más utilizado de daño a proteína es el ensayo de carbonilos (figura 8). En este trabajo se cuantificaron los grupos carbonilos por el método del 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) (ANEXO VIII).



Figura 8. Determinación de grupos carbonilos.

Cuantificación de Ditirosinas en plasma

La formación de ditirosinas (o, o-tirosina) es un marcador específico de proteínas dañadas oxidativamente por lo que han sido usadas como marcador de estrés oxidativo ⁽¹⁷¹⁾. De acuerdo al método por fluorescencia de Lehrer y Pasman (1967), en este trabajo se utilizaron 100 μL de plasma, una longitud de onda de 320 nm de excitación y 405 nm utilizando un espectrofluorómetro PTI (Photon Technology International). La concentración final se calculó usando como estándar ditirosinas sintetizadas en el laboratorio ⁽¹⁷²⁾ (ANEXO IX).

Determinación de grupos SH proteicos en plasma

El reactivo de Ellman (5,5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzoico) o DTNB es usado para cuantificar grupos tiol. Los grupos tiol reaccionan con este componente, rompiendo la unión disulfido generando 2-nitro-5-tiobenzoato (TNB^-), el cual se ioniza en agua a pH alcalino o neutro generando el dianion TNB^{2-} . Este TNB^{2-} es de color amarillo. La reacción es rápida y estequiométrica, la adición de un mol de tiol produce un mol de TNB. El TNB^{2-} es cuantificado espectrofotométricamente (figura 9) midiendo la absorbancia en luz visible a 412 nm, (ANEXO X) usando como coeficiente de extinción $14,150 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Esta técnica puede ser usada para medir grupos tiol en moléculas de bajo peso molecular como glutatión; además en soluciones puras, muestras biológicas como sangre y en proteínas ⁽¹⁷³⁾.



Figura 9. Espectrofotometro.

Se tomaron 50 μL de plasma y se mezclaron con 450 μL de Tris-base (0.2 M, pH 8.2), 50 μL de 5,5 ditio-bis-2-nitro-ácido benzoico (DNBT 1.5 mM) y 450 μL de metanol absoluto, teniendo cada problema su respectivo blanco, consistiendo de 50 μL de plasma, 500 μL de Tris-base (0.2 M, pH 8.2) y 450 μL de metanol absoluto (figura 10). Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente durante 30 minutos y protegidos de la luz. Una vez transcurrido el período de incubación se centrifugaron a 3,500 rpm por 10 minutos, se recuperó el sobrenadante y se realizaron las lecturas de absorbancias a una longitud de onda de 412 nm ⁽¹⁷⁴⁾. Se utilizó como estándar cisteína (Sigma. St. Louis, MO, USA). Los resultados se ajustan por miligramo de proteína y se reportan en nmol /mg de proteína (ANEXO VI).

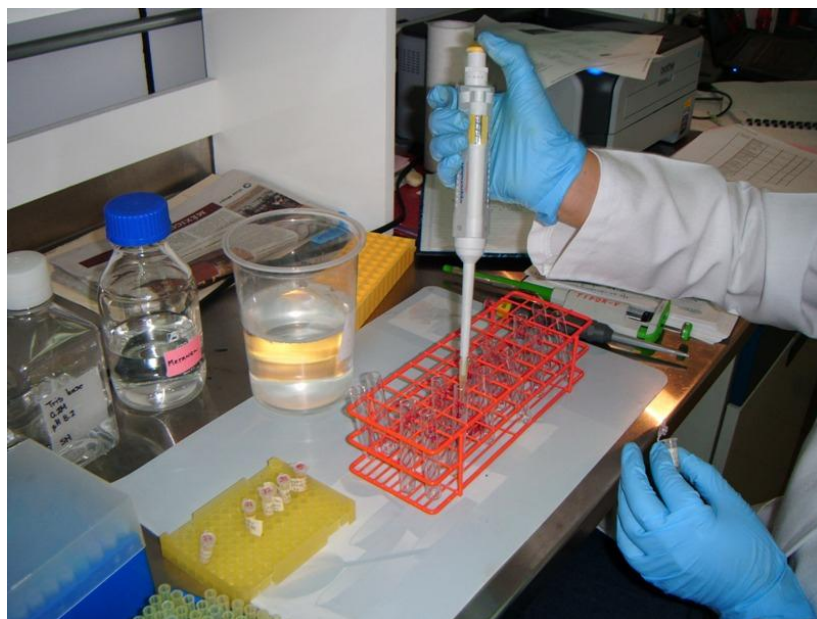


Figura 10. Determinación de grupos Tiol grupos SH totales.

V.I.5.b. Técnicas utilizadas para el segundo objetivo.

Obtención de insulina humana modificada por el estrés oxidativo presente en sangre de pacientes obesas

En una bolsa de diálisis Spectra / Por[®] (membrana tubular porosa-molecular 3,500 -Spectrum Laboratories, Inc. CA. USA) se agregó 200 µl de insulina nativa. Esta bolsa se introdujo en tubo de ensayo conteniendo 6 ml de sangre total de pacientes obesas, se tapó e incubó a 37° C en un termoblock Thermolyne-Cimarec[®] 2 (Barnstead Internacional, IOWA – USA) por 3 horas, cada 15 minutos se agitó cuidadosamente el tubo con el fin de mezclar el paquete celular y plasma. Enseguida se recuperó la bolsa conteniendo la insulina para ser lavada con solución salina 0.9% para quitar el excedente de sangre de las paredes de ésta, siendo recolectada la insulina en un tubo de ensayo seco para ser almacenada en refrigeración a una temperatura de 2 – 8° C hasta su análisis.

Para determinar que la insulina humana recombinante expuesta a sangre de mujeres obesas presentó modificaciones estructurales se determinó el daño a

proteínas; a) grupos carbonilos y b) reducción de nitro-azul de tetrazolium (NBT), además se realizó electroforesis no desnaturizante para analizar el patrón electroforético de la insulina.

Cuantificación de formazán.

Los residuos de fenilalanina presentes en las proteínas son susceptibles al ataque por radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), dando lugar a la formación de tirosinas que al continuar expuestas a radicales $\text{OH}\cdot$ se hidroxilan nuevamente formando derivados reducidos como es el caso del catecol 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) que unida a una proteína y en presencia de metales de transición (Cu^{2+} y Fe^{2+}) forma ortoquinonas, las cuales son reductoras del compuesto nitroazul de tetrazolio (NBT) generando formazan, compuesto que es cuantificado espectrofotométricamente a $530\text{nm}^{(175)}$.

Se tomaron $20\ \mu\text{L}$ de plasma y se mezclaron con 1mL NBT $0.28\ \text{mM}$ (preparado al momento de usarse en glicina $2\ \text{M}$, $\text{pH}\ 10$). Se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente, protegidos de la luz y se realizaron lecturas de absorbancia a $530\ \text{nm}$. Los resultados obtenidos se ajustan por miligramo de proteína, reportándose en nmol de formazan/ mg de proteína (ANEXO IX)

Electroforesis.

La electroforesis de proteínas en geles con una matriz de poliacrilamida, comúnmente denominada electroforesis en poliacrilamida (PAGE, 'polyacrilamide gel electrophoresis') se uso para caracterizar la insulina (ANEXO XI). La porosidad del gel se determinó de acuerdo a las proporciones relativas de poliacrilamida y bis-acrilamida, siendo menor el poro cuanto más bisacrilamida vs. acrilamida se use en este caso fue al 15%, se sometió a las proteínas a migración sin desnaturización (figura 11). Se utilizó acrilamida 44.4% TRIS ISM 8.8%, agua destilada, persulfato de amonio 10% TEMED, y para el gel concentrador TRIS OSM 6.8%. Polimerizado el gel, se colocó en la cámara de electroforesis (figura 12), y se llenó la cámara con buffer de corrida

(Tris base 0.02 M y glicina 0.2 M, pH 8.3). Se colocaron 5 μ L de insulina (39 μ g) y se desarrollo la electroforesis a 100 volts.

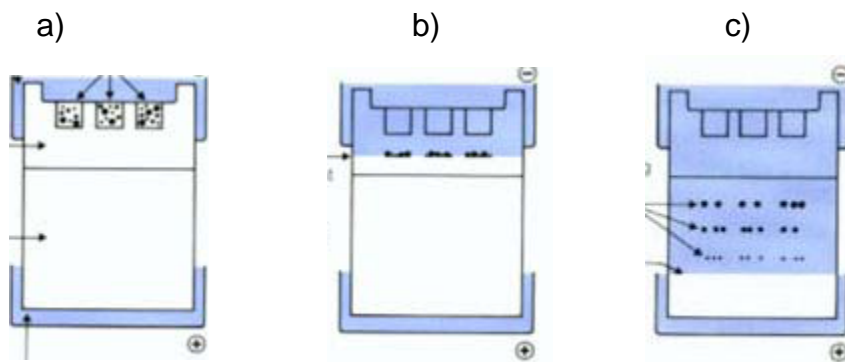


Figura 11. gel de acrilamida. En a) se ve el gel concentrado, en b) se muestra las proteínas concentradas y en c) se identifico la proteína dependiendo del peso molecular (PM).

Tinción de geles (Tinción con azul de Coomassie)

Después de la electroforesis el gel de poliacrilamida se colocó en un contenedor y se cubrió con solución fijadora (metanol 50% (v/v), ácido acético 10% (v/v) y agua 40 %) incubando por 10 minutos. Transcurrido el tiempo se colocó la solución de tñido (metanol 50% (v/v), azul de Coomassie brillante R-25, 0.05% (v/v), ácido acético 10% (v/v) y agua 40%) por 10 minutos. Posteriormente el gel fue lavado dos veces con suficiente agua para eliminar el exceso de solución de tñido. Se agrego solución de desteñido (ácido acético 7%, metanol al 5% y agua 88%) se mantuvo en agitación por 30 minutos y se realizaron varios lavados hasta la aparición de bandas azules y un fondo claro ⁽¹⁷⁵⁾ (figura 13).



Figura 12. Electroforesis no desnaturalizante.

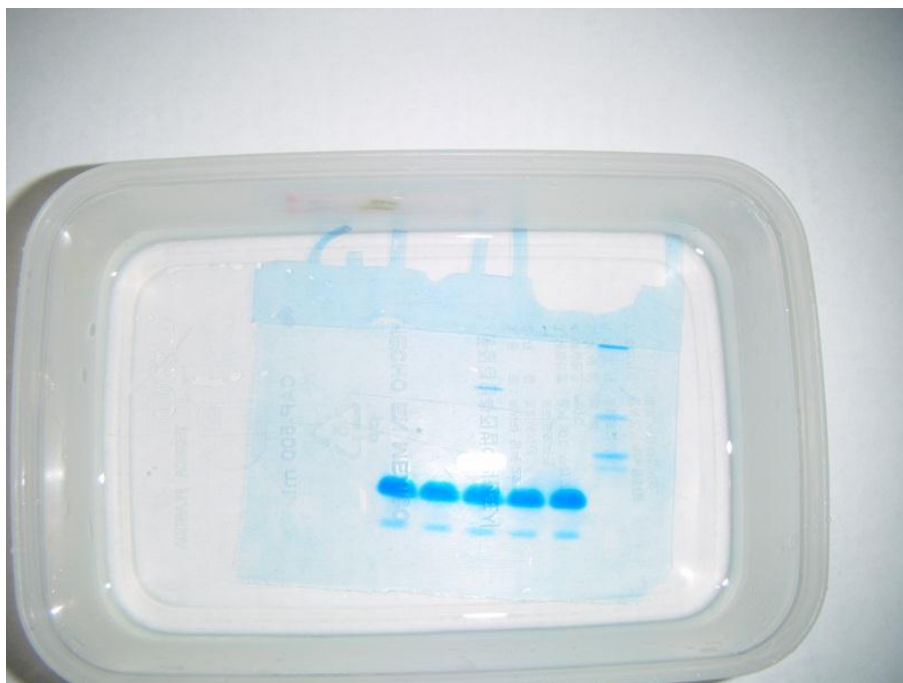


Figura 13. Gel posterior a la tinción de coumasi.

V.I.I.6. Captura y procesamiento estadístico de datos

Se realizaron pruebas intra e Inter-grupales. Los resultados son expresados como promedios \pm DE. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) con una prueba de Bonferroni con el programa Prism 4.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA), y pruebas de t de student.

VII.6a INDICES DE CALIDAD

a) REGISTRO DEL PROYECTO DE INVESTIGACION EN EL IPN (ANEXO I)



Instituto Politécnico Nacional
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

"2010, Año de la Patria Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución"
"75 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Juan de Dios Bátiz"
"70 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Miguel Othón de Mendizábal"
"45 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Narciso Bassola"
"30 Aniversario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Michoacán"

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



SIP/DI/DOPI/2106/10

C. IVONNE MARÍA OLIVARES CORICHI
PROFESOR A INVESTIGADORA
ESM
P R E S E N T E.

Por este conducto y con fundamento en la información existente en los archivos de esta Dirección de Investigación, reconoce que se encuentra registrada en el siguiente proyecto de investigación.

CLAVE	TÍTULO DEL PROYECTO	ACTIVIDAD	AVANCE
20090030	EFEECTO DE LA DIETA Y EL EJERCICIO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN PLASMA DE PACIENTES OBESAS	DIRECTORA	100%

Se extiende la presente a los veinte días del mes de septiembre del dos mil diez.

Atentamente
"LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA"

DR. HEBERTO BALMORI RAMÍREZ
Director de Investigación

SECRETARÍA DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO


HBR/MGL*meq

Edificio de la Secretaría Académica, 2do. Piso Av. Luis Enrique Erro s/n.,
Unidad Profesional "Adolfo López Mateos", Zacatenco
t. +52 (55) 5729 6000 | exts.: 50475, 50483, 50504 | www.sip.ipn.mx

INDICES DE CALIDAD

b) ARTICULOS PUBLICADOS

Artículo 1. (ANEXO XXIV)



Obes Facts 2012;5(1):	
DOI: 10.1159/000336526	© 2012 S. Karger AG, Basel
Received: March 30, 2011	1662-4033/120000-0000/\$38.00/0
Accepted: October 12, 2011	www.karger.com/ofa

Hypocaloric Diet and Regular Moderate Aerobic Exercise Is an Effective Strategy to Reduce Anthropometric Parameters and Oxidative Stress in Obese Patients

Liliana Guterrez-Lopez^a Jose Ruben Garcia-Sanchez^b Maria de Jesus Ricon-Viquez^b Eleazar Lara-Padilla^b Martha P. Sierra-Vargas^c Ivonne M. Olivares-Corichi^b

^aDepartment of Sport and Informatics, Pablo de Olavide University, Sevilla, Spain, ^bPostgraduate Studies and Research Section, School of Medicine National Polytechnique Institute, ^cDepartment of Biochemistry and Environmental Medicine, National Institute of Respiratory Diseases Ismael Cosío Villegas, México City, Mexico

Key Words

Diet · Exercise · Insulin resistance · Obesity · Weight loss · Free radicals · Oxidative stress · Reactive oxygen species

Abstract

Background: Studies show that diet and exercise are important in the treatment of obesity. The aim of this study was to determine whether , additional regular moderate aerobic exercise during a treatment with hypocaloric diet has a beneficial effect on oxidative stress and molecular damage in the obese patient. **Methods:** Oxidative stress of 16 normal-weight (NW) and 32 obese 1 (O1) subjects (BMI 30–34.9 kg/m²) were established by biomarkers of oxidative stress in plasma. Recombinant human insulin was incubated with blood from NW or O1 subjects ,and the molecular damage to the hormone was analyzed. Two groups of treatment , hypocaloric diet (HD)and hypocaloric diet plus regular moderate aerobic exercise (HMAE), were formed, and their effects in obese subjects were analyzed. **Results:** The data showed the presence of oxidative stress in O1 subjects. Molecular damage and polymerization of insulin was observed more frequently in the blood of O1 subjects. The treatment of O1 subjects with HD decreased the anthropometric parameters as well as oxidative stress and molecular damage; molecular damage was more effectively prevented by the treatment with HMAE. **Conclusion:** HD and HMAE treatments decreased anthropometric parameters, oxidative stress, and molecular damage in O1 subjects.

Jose Ruben Garcia Sanchez
Postgraduate Studies and Research Section , School of Medicine National Polytechnique Institute
Plan de San Luis y Diaz Mirón, Casco de Santo Tomas, 11340 Mexico City (Mexico)
E-mail: rubenq26@excite.com

Artículo 2: (ANEXO XXV)

748
Original Basic

Oxidative Stress Present in the Blood from Obese Patients Modifies the Structure and Function of Insulin

Authors I. M. Olvera-Corichi, M. J. Rincon Viquez, L. Gutierrez-Lopez, G. M. Ceballos-Rios, J. R. Garcia-Sanchez

Affiliation Postgraduate Studies and Research Section, School of Medicine National Polytechnique Institute, Mexico Distrito Federal, Mexico

Key words
 obesity
 free radicals
 reactive oxygen species

Abstract
 Obesity and its associated disorders constitute a growing epidemic across the world. Numerous studies have demonstrated the presence of systemic oxidative stress in patients with obesity. In this study, we show the effects of oxidative stress present in the blood from obese patients on recombinant human insulin. Insulin was incubated with whole blood (WB) from overweight subjects (OW), obese 1 patients (O1), or normal weight volunteers (NW) (n=16 for each group). Whole blood from OW and O1, unlike WB from NW, increased the carbonyl content of insulin; however, only whole blood from O1 patients increased the amount of formazan present in the hormone. Interestingly, the incubation of insulin with WB from O1 provoked a decrease in the hypoglycemic activity of the hormone (18%), an effect due to insulin polymerization. In addition, we showed that the formation of the insulin polymer generated the formation of new epitopes and the development of a new immunogenicity. These observations show that oxidative stress present in the WB of O1 patients can result in abolition of the biological activity of insulin and contribute to the development of an immune response to the hormone.

Introduction
 Obesity is considered a problem of developed countries; however, the disease also affects developing countries. In fact, the high incidence of obesity in both adults and children in such countries has recently led the World Health Organization (WHO) to label obesity as a "global epidemic". Human obesity is associated with the presence of systemic oxidative stress, which is caused by a dysregulation in the production of adipocytokines by accumulated fat [1]. High levels of adipocytokines, such as TNF- α , adiponectin, and IL-6 stimulate the production of reactive oxygen species (ROS) generate an imbalance between ROS and antioxidant defenses and the development of systemic oxidative stress [2,3]. Importantly, the accumulated fat and systemic oxidative stress can not only co-exist but also increase one another, favoring oxidative damage. Although oxidative stress has been studied in obese patients, there has been little investigation of oxidative stress-induced molecular damage to specific biological molecules [4,5]. In fact, the presence of oxidative damage is related to cleavage of lipids, protein oxidation [6,7], and the development of various complications in the obese patient, such as the metabolic syndrome [8,9], cardiovascular disease, stroke, and type 2 diabetes [10,11]. Recent studies have shown that tissues from obese patients become resistant to the action of insulin, causing increases in the levels of glucose and insulin. The presence of hyperglycemia in obese patients is another factor that contributes to systemic oxidative stress because high glucose levels stimulate mitochondrial ROS overproduction and activate enzymes related to ROS production, such as nitric oxide synthase, xanthine oxidase, aldose reductase, and enzymes of the polyol pathway [12]. Recently, we have developed an in vitro system that allows us to study the effects of oxidative stress present in the blood on proteins [13]. In the present study, we show the metabolic state of oxidative stress present in blood from overweight and obese patients by using biomarkers that indicate oxidative damage in plasma. Human insulin was incubated with blood from these patients, and biomarkers of damage to the hormone were analyzed; these demonstrated changes in insulin structure. Interestingly, electrophoretic analysis of these insulins showed a polymerization of the

received 05.04.2011
 accepted 12.07.2011

Bibliography
 DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1286305>
 Horm Metab Res 2011; 43: 748–753
 © Georg Thieme Verlag KG
 Stuttgart · New York
 ISSN 0018-5043

Correspondence
J. R. Garcia-Sanchez
 Postgraduate Studies and Research Section
 School of Medicine National Polytechnique Institute
 Plan de San Luis y Diaz Mirón
 Casco de Santo Tomas
 11340 Mexico Distrito Federal
 Mexico
 Tel.: +55/57/296 300
 ext. 62820
 Fax: +55/57/296 300
 rubeng26@esdmex.com

Olvera-Corichi IM et al. Oxidative Stress Modifies Insulin... Horm Metab Res 2011; 43: 748–753

Artículo 3: (ANEXO XXVI) EN REVISION



Efecto de una dieta hipocalórica, ejercicio aeróbico moderado y antioxidantes sobre el estrés oxidativo presente en plasma de sujetos obesos

Liliana López Gutiérrez^{1,2}, José Rubén García Sánchez², Eleazar Lara Padilla^{1,2}, María de Jesús Rincón Víquez¹, Ivonne María Olivares Corichi¹

¹Departamento de deporte e informática, Universidad Pablo de Olavide; Carretera Utrera Km1-41013, Sevilla España. ²Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina del IPN. México, DF.

Correspondencia:

José Rubén García Sánchez. Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n. Casco de Santo Tomás, México, DF. Tel y Fax (01)-55-57-29-600 extensión 62820 y 62819. e-mail: rubeng26@excite.com

Título corto: Efecto de la dieta, ejercicio y antioxidantes en el estrés oxidativo

Palabras clave: Obesidad, estrés oxidativo, antioxidantes, daño oxidativo.

b) PRESENTACIONES A CONGRESOS

1. Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología 2008 (ANEXO XVI)



2. Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología 2009 (ANEXO XVII)



3. Congreso de la Sociedad Mexicana de Bioquímica 2010 (ANEXO XVIII)



MESA DIRECTIVA 2008 - 2011
PRESIDENTE
DR. JORGE VÁZQUEZ RAMOS
VICE PRESIDENTE
DR. JESÚS AGUIRRE LINARES
SECRETARIO TESORERO
DRA. CLORINDA ARBAS ÁLVAREZ
SUB-SECRETARIO TESORERO
DR. EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

La Sociedad Mexicana de Bioquímica otorga la presente

CONSTANCIA

a :

Ivonne María Olivares Corichi

Quien asistió y presentó el trabajo:

Estado oxidante/antioxidante en pacientes obesas antes y después de una dieta y ejercicio: cambios estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes obesas.

Por:

Ivonne María Olivares Corichi, Liliana Gutiérrez López, Eleazar Lara Padilla, Alberto Pizafía Venegas, José Rubén García Sánchez.

Dentro de la modalidad de cartel durante el XXVIII Congreso Nacional de Bioquímica del 7 al 12 de Noviembre en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Atentamente
Por el Comité Organizador



Dr. Jorge Vázquez Ramos
Presidente

SOCIOS FUNDADORES
Dr. Berberís Amagón Lozano
Dr. Edmundo Ceballos Cuadrilla
Dr. Guillermo Carragel Sandoval
Dr. Joaquín González (H)
Dr. Carlos del Río Estrada (H)
Dr. Silvestre Fierro Pineda
Dr. Mario García Hernández (H)
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kumate Rodríguez
Dr. José Laporte Gomis
Dr. Guillermo Muelas Peláez (H)
Dr. Raúl Ochoa Vidaurrá
Dr. Elías G. Pardo Cordón
Dr. Guillermo Soberón Acevedo

4. Congreso de la Sociedad Mexicana de Bioquímica 2010 (ANEXO XIX)



Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.
FUNDADA EN 1957

AV. OPIPERER EN COL. SAN ANDRÉS TOTOLTEPEC,
C.P. 14600 MÉXICO, D.F. (CASA TALLER)
APARTADO POSTAL 19-400
TEL. Y FAX: 5622-4742
TEL. 5622-5823
http://smb.org.mx
Correo electrónico: smb@smb.org.mx

MESA DIRECTIVA 2009 - 2011
PRESIDENTE
DR. JORGE VÁZQUEZ RAMOS
VICEPRESIDENTE
DR. JESÚS AGUIRRE LINARES
SECRETARIO TERCERARIO
DRA. GREGORIA AGUIRRE ALVAREZ
SUB-SECRETARIO TERCERARIO
DR. ENRIQUE ROJAS DEL CASTILLO

SOCIOS FUNDADORES
Dr. Sebastián Arreguete Lozano
Dr. Edmundo Ceballos Cuadilla
Dr. Guillermo Cervantes Sandoval
Dr. Joaquín Contreras (†)
Dr. Carlos del Río Salas (†)
Dr. Silvestre Pineda Frensd
Dr. Mario García Hernández (†)
Dr. Jesús García García
Dr. Jesús Karam Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Moyaño Velázquez (†)
Dr. Raúl Ochoa Vilasmita
Dr. Elvira G. Pardo Córdova
Dr. Guillermo Sobrino Acevedo

La Sociedad Mexicana de Bioquímica otorga la presente

CONSTANCIA

a :

María de Jesús Rincón Viquez

Quien asistió y presentó el trabajo:


Efecto del estrés oxidativo presente en la sangre de mujeres obesas, sobre la estructura química y función de la insulina.

Por:

María de Jesús Rincón Viquez, José Rubén García Sánchez, Liliana Gutiérrez López, José Roberto López Hernández, Ivonne María Olivares Corichi.

Dentro de la modalidad oral durante el XXVIII Congreso Nacional de Bioquímica del 7 al 12 de Noviembre en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Atentamente
Por el Comité Organizador



Dr. Jorge Vázquez Ramos
Presidente


6. Congreso de investigación en Medicina Escuela Superior de Medicina del IPN (ANEXO XX)



7. Congreso de investigación en Medicina Escuela Superior de Medicina del IPN (ANEXO XX)



8. 11ª feria de Posgrados de calidad CONACyT 2010 (ANEXO XXI)



**RESALTA LA PRESENCIA DE
TU INSTITUCIÓN EN LA
11ª FERIA DE POSGRADOS**

Exprésalo con un poster



IPN Instituto Politécnico Nacional
Secretaría de Investigación y Posgrado
Dirección de Posgrado

11ª feria de posgrados de calidad 2010

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a: **Liliana Gutiérrez López**
Programa: Especialidad en Medicina del Deporte
Unidad Académica: Escuela Superior de Medicina

por su participación en la muestra especial dentro de la
11ª Feria de Posgrados de Calidad CONACyT 2010

Exprésalo con un Cartel

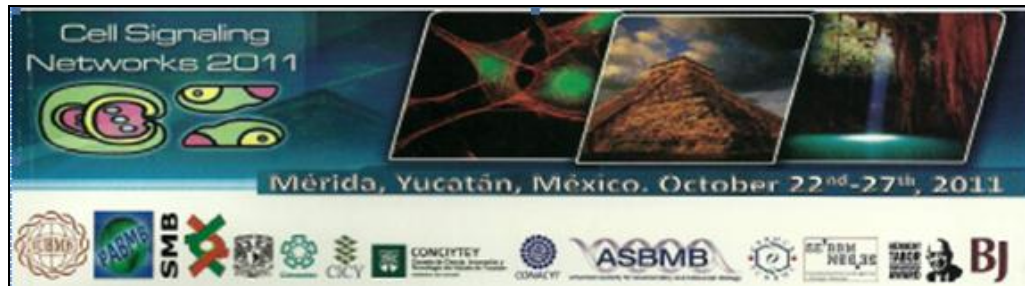
llevado a cabo los días 17 y 18 de mayo del presente en el
Centro de Formación e Innovación Educativa del IPN,

México, D.F., a 24 de junio de 2010


Dr. Jaime Álvarez Gallegos
Secretaría de Investigación y Posgrado

La Técnica al Servicio de la Patria
Vive Mejor
SEP
GOBIERNO FEDERAL
MÉXICO 2010

9. Cell Signaling Networks Sociedad Mexicana de Bioquímica A.C. (ANEXOII)



Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.
FUNDADA EN 1957

AL OPRESOR SAN CUL SAN ANTONIO TOTOLTEPEC,
C. P. 24000 MÉXICO, D. F. (CASA TULCAN)
APARTADO POSTAL 20080
TEL. 7 FAX 923-0400
TEL. 9622-9900
http://smb.org.mx
Correo electrónico: smb@smb.org.mx

MESA DIRECTIVA 2011-2012

PRESIDENTE
DR. JESÚS AGUIRRE LINARES

VICE-PRESIDENTE
DRA. ALICIA SANCHEZ MARJARRIEZ

SECRETARIO TESOQUERO
DR. ENRIQUE RUIZ DEL CASTILLO

SUB SECRETARIO TESOQUERO
DRA. MARIA EUGENIA SONDEBITY SONAPARTE

EDICION FUNDADORA
Dr. Bárbara Aránguiz-Losada
Dr. Edmundo Calvo Cuadrilla
Dr. Guillermo Cornejo Sandoval
Dr. Joaquín Contreras (H)
Dr. Carlos del Río Estrada (H)
Dr. Silvestre Flores Fournier
Dr. Mario García Hernández (H)
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kuriarte Rodríguez
Dr. José Laguna García (H)
Dr. Guillermo Blasquez Velázquez (H)
Dr. Raúl Ochoa de la Cruz
Dr. Elvira G. Pardo Cedillo
Dr. Guillermo Suberón Acevedo

México City, October 31st, 2011

Ms. MARIA DE JESUS RINCÓN VIQUEZ
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
BIOQUÍMICA
PLAN DE SAN LUIS AND SALVADOR DÍAZ MIRON

Email: mjviquez@hotmail.com

Hereby, we acknowledge your participation in the Cell Signaling Networks Conference (CSN2011) that was held in the City of Mérida, Yucatan, Mexico, from October 22nd to 27th.

Also, to thank you for the presentation of your abstract entitled "Detection of insulin polymers in plasma from obese subjects in oxidative stress" by Rincón-Viquez M.J., Olvares Corichi I.M., Gutiérrez López L., Ceballos Reyes G.M. and García Sanchez J.R.

On behalf of the Organizing Committee,


 Dr. Fernando López Casillas
 Inst. Fisiología Celular, UNAM
 Tel. 5255-5622-5625
 email: fcasillas@ifc.unam.mx


 Dr. José Vázquez Prado
 Pharmacology Dept., CINVESTAV IPN
 Tel: 5255-5747-3380
 e-mail: jvazquez@cinvestav.mx

Registration code: 4EB24DQU

Cell Signaling Networks 2011

13th IJMB Conference,
1st PADMD Conference and
3rd Meeting of the
Signal Transduction and
Oxidative Stress
SMD's Branches

Mérida, Yucatán, México
October 22-27, 2011

Organizing Committee
Dr. Fernando López-Casillas
Dr. José Vázquez-Prado
Dr. Teresa Hernández-
Sotomayor

www.csn2011.com



10. Congreso Nacional Estudiantil de Investigación VI congreso de Investigación Politecnica (ANEXO XIII)



5. RESULTADOS

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Resultados del objetivo 1

Para llevar a cabo nuestro proyecto, se inició reclutando a las pacientes obesas y a las personas sanas para este fin. Por lo que de acuerdo al tamaño de muestra calculado, se reclutaron 16 personas sanas (controles) y 32 pacientes obesas grado 1 (O1). Fueron 32 obesas debido a que se dividieron en dos grupos (16 con dieta y 16 con dieta más ejercicio). Y de acuerdo a los criterios de selección en la tabla 7 se muestran los parámetros antropométricos de los grupos en el estado inicial.

Tabla 8. Parámetros Antropométricos

Parámetros Antropométricos.	Peso normal (N=16)	Obesas 1 (N=32)
peso (kg)	54.7 ± 1.7	84.27±14.0 *
IMC (kg/m ²)	21.4 ± 0.4	33.16±3.9 *
Percentage de grasa (%)	22 ± 3.22	40.78±4.73 *
cintura (cm)	79 ±4.52	98.72±9.83 *
cadera (cm)	93 ±3.71	113.92±9.30 *
Indice cintura cadera	0.83± 0.03	0.86±0.07 *
Edad (años)	25.6 ± 1.4	42.36±11.40
Talla (metros)	1.57 ±0.05	1.58±0.71

Datos expresados en medias ± SD, analizado por t student. *p<0.0001

Posteriormente y de acuerdo a nuestro primer objetivo, evaluamos si las pacientes se encontraban en estado de estrés oxidativo antes del tratamiento, para lo cual se cuantificaron en plasma las concentraciones de MDA (producto de lípidos oxidados), grupos carbonilo, ditirosinas (marcadores de daño a proteína) y grupos SH totales como un biomarcador de defensa antioxidante.

Daño a lípidos insaturados

El malondialdehído (MDA) es empleado ampliamente como marcador indirecto de la producción de radicales libres. Como observamos en la Tabla 9, el grupo de mujeres de obesidad grado 1 presentó un 34% mayor en la concentración de MDA en comparación con el grupo control.

Tabla 9. Marcadores de estrés oxidativo en plasma de los grupos

Biomarcador	Peso normal (n = 16)	Obesas 1 (n = 32)
MDA (μM)	4.82 ± 2.6	$6.5 \pm 1.8^*$
Carbonilos (nmol osazona/mg proteína)	0.71 ± 0.1	$1.47 \pm 0.3^*$
DT (URF/mg proteína)	94.18 ± 9.9	$148.5 \pm 3.15^*$
SH (nmol/mg proteína)	6.21 ± 0.7	6.97 ± 0.5

Los datos expresados en medias \pm DS, analizado t student. * $p < 0.0001$

Daño a proteínas

Las mujeres con obesidad grado 1 como puede observarse en la tabla 9 mostraron un incremento del 57% de ditirosinas en relación a las mujeres con un índice de masa corporal normal.

Las mujeres con obesidad 1 presentaron un incremento de un 207% mayor en la concentración de carbonilos en comparación con el grupo control

Defensas antioxidantes

Los grupos SH mostraron un incremento, aunque este no fue estadísticamente significativo en el grupo de obesida, que mostró un incremento del 12%.

Los resultados indican que las mujeres con obesidad se encuentran en estado de estrés oxidativo por la presencia de daño a biomoléculas (MDA, carbonilos, DT) por EO y un incremento en las defensas antioxidantes grupos SH totales.

Ya establecido que las pacientes estaban en estado de estrés oxidativo por los marcadores de daño a biomoléculas, pasamos al segundo objetivo que era determinar si la insulina recombinante humana, expuesta a sangre de mujeres obesas tenía modificaciones químicas y estructurales.

VIII.2. Resultados del objetivo 2

Modificaciones químicas a la insulina recombinante humana

Para demostrar que la insulina recombinante humana al ser una hormona proteica, podía ser susceptible a modificaciones generadas por estrés oxidativo al exponerla a sangre de mujeres obesas (ver material y métodos); esta hormona fue expuesta a la sangre de las mujeres sanas (grupo control), y con obesidad I y se cuantificaron marcadores de daño a proteína en la hormona.

Como se puede observar en el grafico 2, la insulina recombinante humana expuesta a sangre de mujeres con obesidad presentó modificaciones químicas manifestadas por un incremento en las concentraciones de grupos carbonilo.

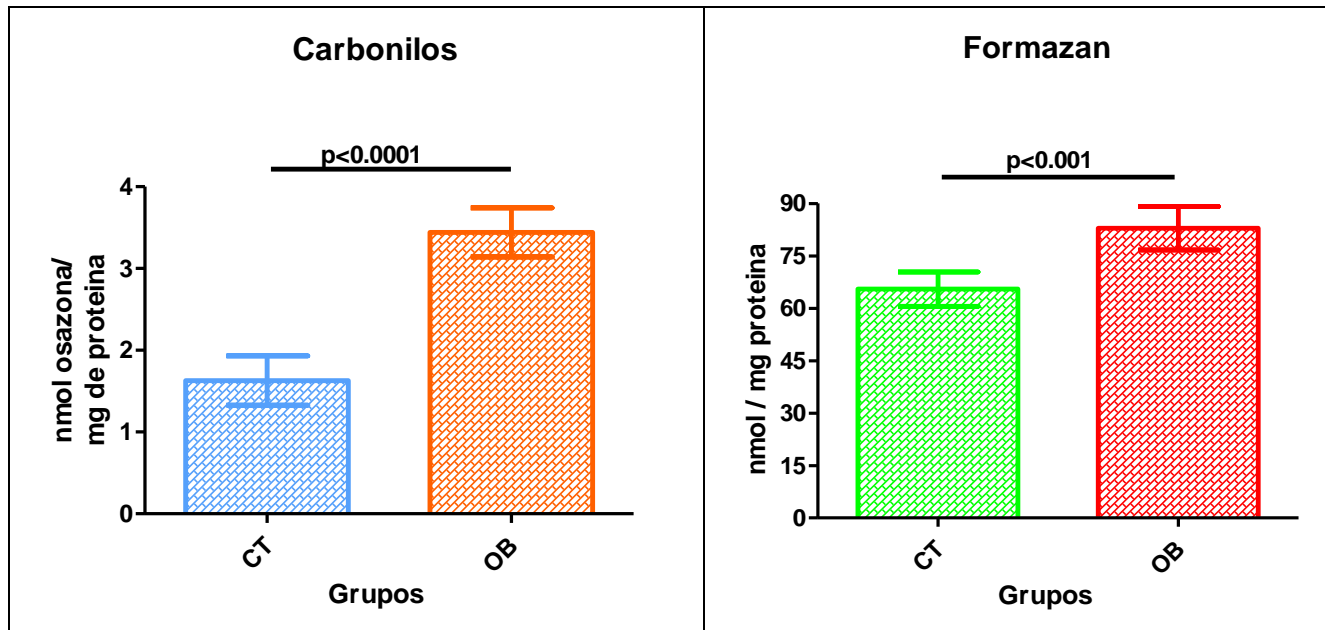


Grafico 2. Grupos carbonilo y formazán insulina.

Aunado a un incremento en la concentración de formazán, en ambos casos en la insulina recombinante humana hubo un incremento en los carbonilos y en la concentración de formazan y este incremento fue estadísticamente significativo.

Estos resultados muestran la capacidad de la sangre de pacientes con obesidad para modificar químicamente a la insulina.

Modificaciones estructurales a la insulina recombinante humana.

De manera conjunta la insulina expuesta a sangre del grupo control, y obesidad se sometio a electroforesis en geles de poliacrilamida (15%) no desnaturizante analizando su patrón electroforético.

Como se puede observar en la figura 14, el patrón electroforético de la insulina nativa (no expuesta a ningún tipo de sangre) presentó una banda de 6 kDa que corresponde al peso molecular de la hormona (carril 1). Un similar patrón electroforético fue obtenido con la insulina incubada en agua (carril 2), sangre del grupo control y

sobrepeso (carril 3 y 4). Interesantemente, el patrón electroforético obtenido con la insulina incubada en sangre de mujer obesa, además de presentar la banda característica de la hormona (6 kDa) mostró la aparición de una nueva banda proteica con un peso molecular de aproximadamente 18 kDa (carril 5 y 6).

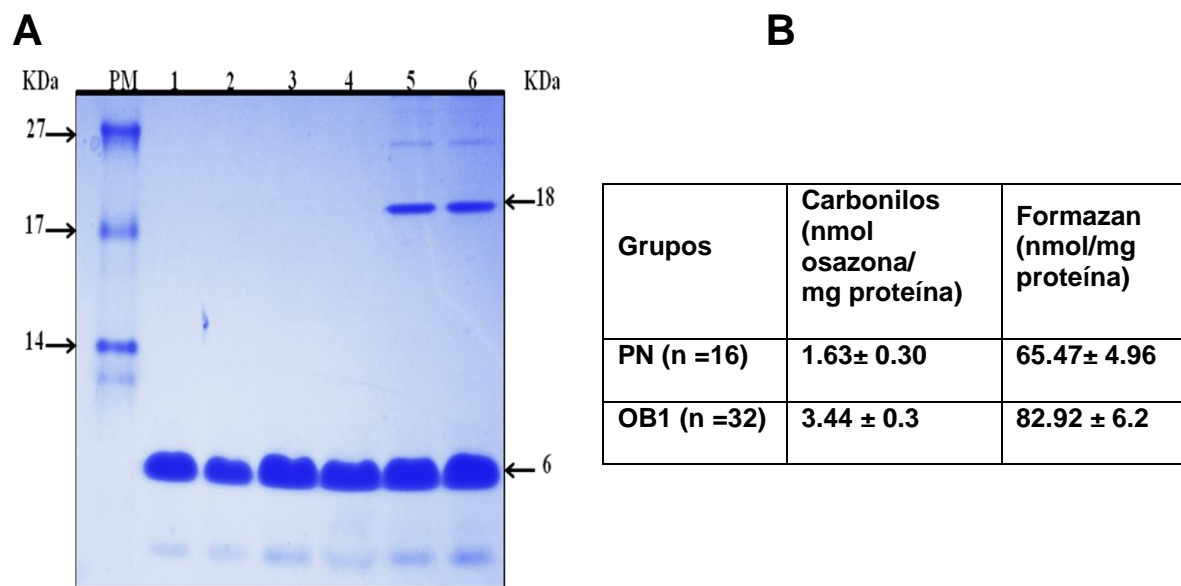


Figura 14. Patrón electroforético de insulinas oxidadas.

Gel representativo (15%) de una electroforesis no desnaturalizante. Acrilamida/bis-acrilamida teñido con azul de Coomassie. Marcador de peso molecular (PM), patrón electroforético de insulina nativa (carril 1), insulina incubada en agua (carril 2), insulina incubada en sangre control (carril 3), insulina incubada en sangre de paciente con sobrepeso (carriles 4) e insulina incubada en sangre de paciente con obesidad grado 1 (carriles 5 y 6).

Los resultados obtenidos del análisis electroforético muestran que la insulina recombinante humana al ser expuesta a sangre del grupo control no presentó cambios en su estructura, sin embargo, las insulinas expuestas a sangre de pacientes con obesidad además de presentar cambios químicos, su patrón electroforético se vio modificado indicando la formación de complejos de la hormona.

Por lo tanto los resultados muestran que la insulina recombinante humana expuesta a sangre de pacientes con obesidad, muestra cambios no solo químicos sino estructurales.

Nuestro tercer objetivo fue evaluar las modificaciones estructurales de la insulina recombinante humana, inducidas por el estrés oxidativo presente en la sangre de

mujeres obesas antes y después del tratamiento con dieta hipocalórica y ejercicio aerobico moderado.

Modificaciones estructurales de la insulina antes y después del tratamiento con dieta hipocalórica y ejercicio aerobico moderado.

Atendiendo al primer objetivo se formaron tres grupos: un grupo control (n=16) y los otros dos con diferentes tratamientos un grupo conformado por 16 mujeres obesas a las cuales se les dio dieta hipocalórica y el otro grupo también formado por 16 pacientes obesas a quienes se les dio dieta hipocalórica más actividad física aerobica moderada (ver material y métodos). El inicio de cada tratamiento fue determinado como 0 días y el final como 90 días.

Los datos antropométricos de antes y después de cada tratamiento se muestran en la tabla 10, donde se realizaron pruebas de t de student pareada para encontrar las diferencias estadísticas. La significancia estadística se muestra en las mismas tablas.

Tabla 10. Variables antropométricas.

PARÁMETRO	DIETA (n=16)			DIETA/EJERCICIO (n=16)		
	0 días	90 días	VALOR "p"	0 días	90 días	VALOR "p"
ANTROPOMETRICO						
PESO (Kg)	87.44±16.30	80.83±12.36	< 0.01	80.46±8.55	77.41±8.69	< 0.01
IMC (Kg/m ²)	33.58±4.51	31.25±3.95	< 0.01	32.67±2.83	31.43±3.0	< 0.01
% DE GRASA	40.82±4.98	37.7±5.62	< 0.01	40.73±4.23	39.21±4.18	< 0.01
CINTURA EN cm	100.72±11.33	92.86±9.4	< 0.01	96.33±6.44	90.23±6.76	< 0.01
CADERA EN cm	113.4±9.90	107.86±8.58	< 0.01	114.55±8.30	108.26±7.99	< 0.01
INDICE CINTURA CADERA	0.88±0.07	0.85±0.06	< 0.01	0.84±0.06	0.80±0.08	< 0.01
EDAD	44.72±11.94	44.72±11.94	-----	39.53±9.56	39.53±9.56	-----
ESTATURA	1.60±0.08	1.60±0.08	-----	1.56±0.04	1.56±0.04	-----

En la tabla 11 se muestra dentro de las variables bioquímicas clínicas los niveles de glucosa basales y después de las intervenciones terapéuticas.

Tabla 11. Variables bioquímicas clínicas

PARAMETRO	CONTROL (n=16)	DIETA (n=16)			DIETA/EJERCICIO (n=16)		
		0 días	90 días	VALOR "p"	0 días	90 días	VALOR "p"
GLUCOSA mg/dL	79.43±1.3	98.81±7.7	90.25±7.0	0.07	91.9±5.7	80.7±4.7	< 0.01

En cuanto a los marcadores plasmáticos de daño molecular por estrés oxidativo en los diferentes grupos, en la tabla 10 se muestran los valores de las concentraciones de malondialdehído (MDA), carbonilos ditirosinas y grupos SH, antes y después de las diferentes intervenciones terapéuticas.

Tabla 12. Valores correspondientes a MDA, ditirosinas, carbonilos y grupos SH antes y después del tratamiento los resultados se presentan como promedio± DE.

PARAMETRO	CONTROL (n=16)	DIETA (n=16)			DIETA/EJERCICIO (n=16)		
		0 días	90 días	VALOR "p"	0 días	90 días	VALOR "p"
MDA μ M	4.82±0.6	6.5±0.9	3.42±0.5	< 0.01	6.50±0.5	3.48±0.7	< 0.01
Ditirosinas URF/mg proteína	94.18±3.1	133.53±13.85	110.7±5.1	< 0.01	132.7±5.9	151.9±19.58	< 0.06
Carbonilos nmol osazonas/mg de proteína	0.71±0.1	1.68±0.2	0.76±0.03	< 0.01	2.47±0.4	0.68±0.06	< 0.01
SH nmol/mg protein	6.21±0.7	6.87±1.05	4.39±0.06	< 0.01	7.08±0.5	4.48±0.7	< 0.01

Como se muestra en la tabla 12 los niveles de MDA disminuyeron de forma estadísticamente significativa en el grupo de la dieta (D) y en el grupo de dieta más ejercicio (DE). Los niveles de ditirosinas muestran una disminución estadísticamente significativa en el grupo de dieta a los 90 días de tratamiento y un incremento aunque este no es estadísticamente significativo, muestran una tendencia a elevarse en el grupo de dieta más ejercicio. En el caso de los grupos carbonilos, se encontraron diferencias significativas entre los tiempos cero y los 90 días después de los tratamientos en el grupo de D y el grupo de DE (tabla 12) Los grupos SH, como se

puede ver en la tabla 12, disminuyeron en el grupo con dieta después de los 90 días de tratamiento, en el grupo DE también disminuyeron en ambos este decremento fue estadísticamente significativo.

Modificaciones químicas de la insulina recombinante humana antes y después de las intervenciones terapéuticas.

En cuanto a las modificaciones químicas se pudo observar que se presentó una disminución más significativa del nivel de carbonilos en el grupo de la dieta, que en el grupo de dieta más actividad física moderada (tabla 13 y grafico 3). A su vez hubo existe una disminución más significativa de los niveles de formazan en el grupo de dieta mas actividad física modera en comparación con el grupo que se le suministró solo dieta como medida terapéutica.

Tabla 13. Valores correspondientes de carbonilos en insulina antes y después del tratamiento los resultados se presentan como promedio \pm DE.

PARAMETRO	CONTROL (n=16)	DIETA (n=16)			DIETA/EJERCICIO (n=16)		
	0 días	0 días	90 días	VALOR "p"	0 días	90 días	VALOR "p"
CARBONILOS nmol osazonas/mg de proteína	1.63 \pm 0.30	3.510 \pm 0.23	1.88 \pm 0.37	0.001	3.38 \pm 0.72	1.43 \pm 0.38	0.001
FORMAZAN	63.37 \pm 4.1	72.11 \pm 4.6	65.11 \pm 2.45	0.02	75.34 \pm 6.9	54.00 \pm 3.1	0.001

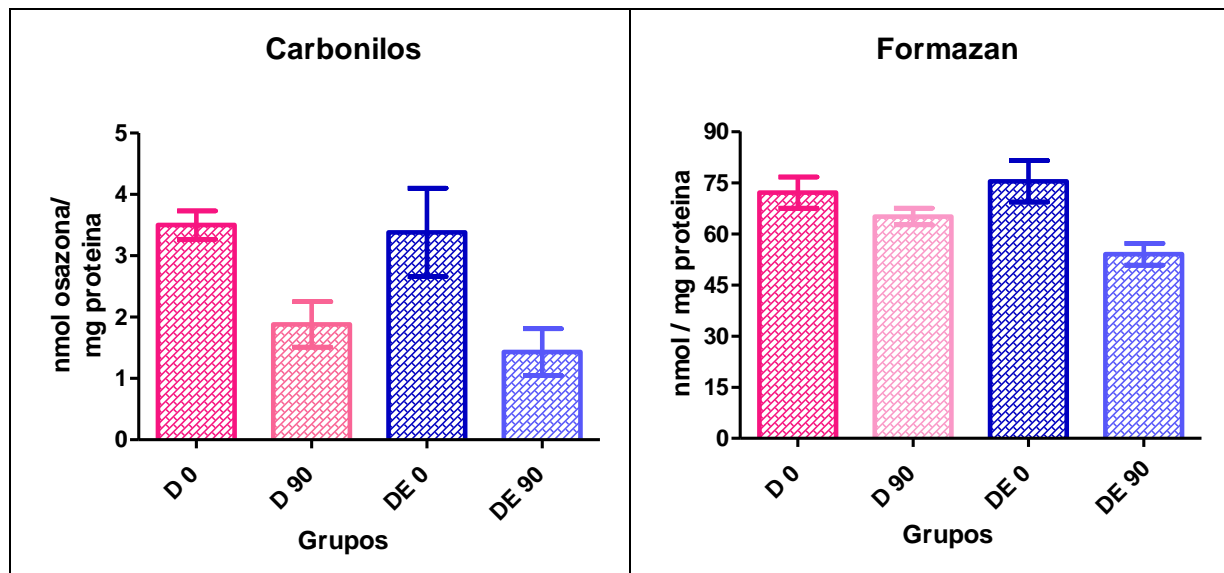


Grafico 3. Carbonilos y formazan en insulina expuesta a sangre de obesas en los diferentes grupos antes y después de las intervenciones terapéuticas.

Modificaciones estructurales de la insulina recombinante humana antes y después de las intervenciones terapéuticas

Como se puede observar en la figura 5, el patrón electroforético de la insulina nativa (no expuesta a ningún tipo de sangre) presentó una banda de 6 kDa que corresponde al peso molecular de la hormona (carril 1). Un similar patrón electroforético fue obtenido con la insulina incubada en agua (carril 2), sangre del grupo control (carril 3 y 4). Además se muestra el patrón electroforético obtenido con la insulina incubada en sangre de mujer obesa, que presenta la banda característica de la hormona (6 kDa) se muestra la aparición de una nueva banda proteica con un peso molecular de aproximadamente 18 k Da en el carril 5 antes del tratamiento y en el carril 6 después del tratamiento con dieta hipocalórica

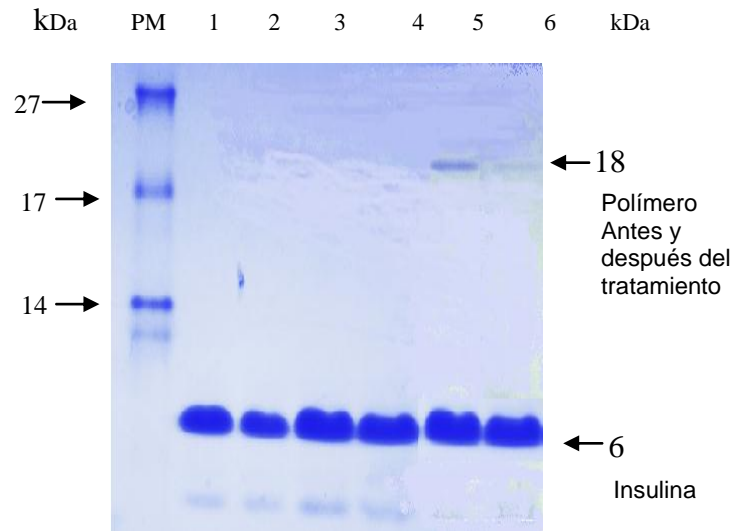


Fig 15. Patrón electroforético de insulinas oxidadas, Antes y después del tratamiento con dieta.

Gel representativo (15%) de una electroforesis no desnaturalizante. Acrilamida/bis-acrilamida teñido con azul de Coomassie. Marcador de peso molecular (PM), patrón electroforético de insulina nativa (carril 1), insulina incubada en agua (carril 2), insulina incubada en sangre control (carril 3, 4), e insulina incubada en sangre de paciente con obesidad grado 1 antes de las intervenciones terapéuticas (carril 5) y después del tratamiento con dieta hipocalórica (carril 6)

Un patrón electroforético similar muestra el grupo de dieta hipocalórica más ejercicio. Como se observa en la figura 15 en el carril 5 se muestra el patrón electroforético obtenido con la insulina expuesta a sangre de mujer obesa, se muestra la aparición de una nueva banda proteica con un peso molecular de aproximadamente 18 k Da, antes de las intervenciones terapéuticas y en el carril 6 se muestra el patrón electroforético de la insulina después del tratamiento. Lo mismo se muestra en la figura 16.

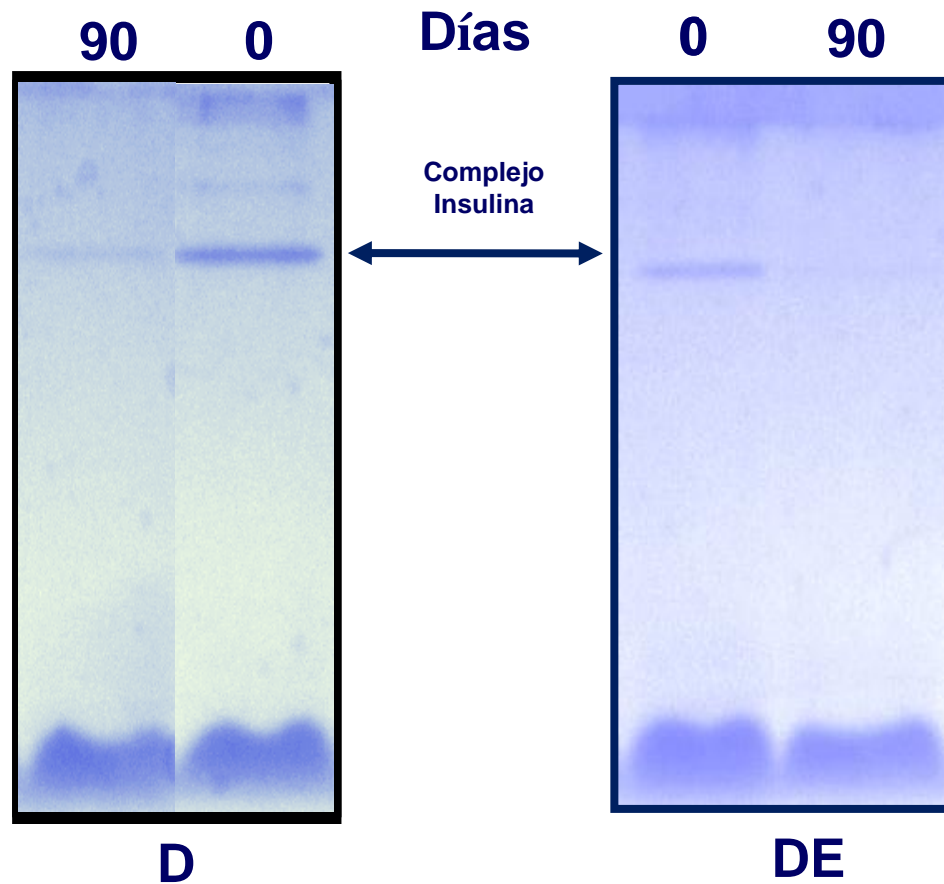


Fig 16. Patrón electroforético de insulinas oxidadas, Antes y después del tratamiento con dieta y ejercicio

En el patrón electroforético antes y después de las intervenciones terapéuticas, aunque no desaparece la banda proteica 18 k Da (insulina polimerizada), es evidente una disminución del complejo en ambos tratamientos en el grupo de dieta y en el grupo de dieta más ejercicio (figura 15,16).

6. DISCUSIÓN

IX. DISCUSIÓN

En los últimos tiempos las condiciones de vida han determinado una variación en los procesos de transición epidemiológica y poblacional tendiente al predominio de problemas de salud derivados del sedentarismo y la marcada disminución de actividad física. En México la población es cada vez más sedentaria, de forma que el 80.4% de la población mayor de 30 años no realiza ejercicio ningún día a la semana. Aunando a esto existe una inadecuada alimentación. La última encuesta nutricional mostró en México un cambio en los hábitos alimentarios, con fácil accesibilidad a alimentos de alto valor energético y en contenido graso, sobre todo en el consumo de carbohidratos refinados, condiciones ideales para generar obesidad y un acumulo de grasa de forma generalizada. Este es el factor de riesgo modificable más importante para el desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus. En la mayor parte de los estudios epidemiológicos puede observarse que la mortalidad empieza a aumentar cuando el índice de masa corporal (IMC) supera los 25 kg/m².

Se ha relacionado a la obesidad con un proceso inflamatorio de bajo grado y un estado denominado estrés oxidativo, condiciones que ocasionan daño intra y extracelular a biomoléculas (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) en pacientes con obesidad. Un ejemplo de este daño, es la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDLox)⁽¹⁷⁶⁾. Esta lipoproteína participa en la formación de las células espumosas y en el desarrollo de la placa de ateromatosa, de ahí la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares en pacientes obesos.

Tomando en cuenta que la insulina es otra proteína circulante como la LDL, Olivares y colaboradores (2005a, 2005b) demostraron in vitro, que la hormona peptídica insulina también es susceptible de oxidarse, adquiriendo cambios en su estructura y función. Con estos antecedentes Montes y colaboradores (2010) proponen que esta oxidación de la insulina pudiera ocurrir en paciente diabéticos. Mediante la exposición de la insulina recombinante humana a sangre de pacientes diabéticos se demostró que esta sangre tiene la capacidad de oxidar a la insulina. Esto fue posible considerando a

la sangre de este tipo de paciente como un sistema productor de ERO (macrófagos, leucocitos, plaquetas, proteínas glicadas, autooxidación de la glucosa, activación de la vía de los polioles, entre otras). Sin embargo, en un paciente diabético al activar todas estas vías productoras de especies reactivas de oxígeno, difícilmente se puede controlar su estrés oxidativo. Es posible controlar la glucemia pero el estrés oxidativo al parecer es constante. Recientemente nuestro grupo de trabajo, tomando en cuenta que la obesidad antecede a la diabetes mellitus tipo 2 y que la obesidad es prevenible, nos propusimos determinar si la insulina humana recombinante también es susceptible de modificaciones químicas y estructurales al exponerla a la sangre de pacientes obesas grado 1. Los resultados indican que las pacientes con esta obesidad se encuentran en estado de estrés oxidativo como lo describe la literatura ⁽¹⁷⁹⁾. También demuestran que este estrés puede modificar la estructura química y función hipoglucemiante de la insulina debido a que se forma un polímero de aproximadamente 18 KDa (artículo aceptado por la revista *Hormone and Metabolic Research*- Art.2011-04-0098). Con esto se propone por primera vez que la insulina oxidada puede participar en el mecanismo de resistencia a la insulina ya que en la literatura se ha determinado que es principalmente por alteraciones a nivel de la célula receptora ⁽¹⁷⁷⁾, de la célula productora o a nivel genético, pero no existen evidencias que planteen la posibilidad de una insulina no-funcional.

Una vez determinado que el estrés oxidativo en las pacientes obesas hace infuncional a la insulina, la pregunta inmediata a responder, era ¿Cómo evitar la oxidación y polimerización de la insulina? Por lo tanto, en este trabajo nos propusimos determinar si la dieta hipocalórica o la dieta mas ejercicio moderado tienen la capacidad de evitar parcial o totalmente la oxidación y polimerización de la insulina. Esto nos ayudaría a plantear estrategias terapéuticas preventivas dirigidas a disminuir el daño metabólico y el daño a biomoléculas, entre las que se encuentra la insulina, además nos indicaría como es que la dieta y el ejercicio participan en la mejora de los pacientes obesos y diabéticos.

Los resultados obtenidos en este trabajo, corroboran que las pacientes con obesidad grado 1 se encuentran en el estado metabólico de estrés oxidativo ⁽¹⁷⁸⁾ y que la insulina puede modificarse al exponerse a la sangre de estas pacientes. Además demuestran por primera vez que los tratamientos con dieta hipocalórica y dieta coadyuvando con el ejercicio, disminuyen el IMC así como el daño a las biomoléculas plasmáticas, debido posiblemente a la disminución de la formación de ERO, lo cual disminuye el estrés oxidativo y esto explicaría la disminución de la oxidación y formación de polímeros de la insulina. Aunque el tratamiento con dieta y ejercicio tuvo una mejor respuesta, ya que hubo disminución en la concentración de los grupos carbonilos (58%) y formazán (28%), en comparación de la dieta sola, que solo disminuyó la concentración de carbonilos (54%). También se pudo observar que la proporción de la banda en el gel de acrilamida es menor en DE que en la de D, lo que nos indicaría una menor formación del polímero de insulina.

Hablando específicamente del tratamiento DE. Se han determinado diversas estrategias para disminuir el estrés oxidativo en diferentes patologías como la dieta y el ejercicio, pero no existen evidencias que muestren el comportamiento de la combinación de estas medidas terapéuticas en los obesos, por lo menos sobre el estrés oxidativo a nivel plasmático. Se ha descrito de manera independiente que la actividad física genera radicales libres y por lo tanto estrés oxidativo, sobre todo de forma aguda en sedentarios y que el beneficio es conducir a un estado de acondicionamiento, en donde se genera una adaptación y un incremento de las defensas antioxidantes y por lo tanto una mejor respuesta al estrés oxidativo. En el caso de la dieta hipocalórica, se ha descrito que el estrés oxidativo disminuye al disminuir los carbohidratos y lípidos ingeridos. En este estudio demostramos que el tratamiento con dieta hipocalórica (con un 20 % de la restricción calórica) ayuda a los pacientes obesos a disminuir los valores de los parámetros antropométricos y el peso, interesantemente los efectos generados por el tratamiento D fueron acompañados con un decremento en los biomarcadores de estrés oxidativo en el plasma; observaciones que son soportadas por las evidencias que muestran los efectos de la dieta y la ingesta de macronutrientes en estrés oxidativo e inflamación (Dandona P.). Esta observación tiene importantes implicaciones, debido al

menor daño oxidativo a las proteínas tales como LDL, insulina o la presentación de procesos patológicos en los cuales el estrés oxidativo juega un papel importante (ateroesclerosis) que debería ser considerado en el manejo de la obesidad. Es importante mencionar que el tratamiento de dieta hipocalórica generó cambios benéficos importantes en el paciente obeso, sin embargo la inclusión de ejercicio de intensidad moderada en el tratamiento indujo una adaptación en la capacidad antioxidante y en consecuencia una mayor resistencia al daño oxidativo (Falone S, Radak Z). En este contexto los datos mostraron que la pérdida de peso inducida por el tratamiento de dieta hipocalórica mostró un efecto significativo en los niveles de MDA, el cual es uno de los indicadores más frecuentemente utilizados de peroxidación de lípidos (Nielsen F) este resultado está de acuerdo con los resultados de Crujeiras, que observó un marcado decremento en MDA con dieta hipocalórica en pacientes obesos (Crujeiras AB). Debido a que los altos niveles de peroxidación de lípidos han sido asociados con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardíacas (Negre-Salvayre A; Fraley AE), la reducción de los niveles de MDA en pacientes obesos por el tratamiento con dieta hipocalórica y muestra su relevancia en el tratamiento de la obesidad.

De esta manera, en este estudio se proporciona evidencia de que el tratamiento con dieta hipocalórica genera efectos beneficiosos significativos en los pacientes obesos, además encontramos que al incluir ejercicio aeróbico moderado en el tratamiento D genera que la sangre de esos pacientes muestre una menor capacidad para inducir daño molecular. Esta observación va de acuerdo con los reportes que indican que el ejercicio aeróbico de intensidad moderada genera una resistencia al estrés oxidativo (Cooper CE; Lwow F). De acuerdo a esto, nuestros datos muestran que el tratamiento dieta hipocalórica más ejercicio moderado proporciona un beneficio contra el estrés oxidativo; sugiriendo que esta combinación podría generar un mejor nivel de salud en el paciente obeso en un corto tiempo (tres meses), con la pérdida de peso corporal, y la disminución de los parámetros antropométricos. De hecho la pérdida de peso observada con el tratamiento de dieta hipocalórica más ejercicio fue asociada con una pérdida de masa corporal y una disminución de los biomarcadores de estrés oxidativo

lo que puede estar asociado con la menor capacidad para inducir un daño molecular a biomoléculas de la sangre de esos pacientes; observaciones que son soportadas por la evidencia que muestra el papel que juega el exceso de grasa en la generación de estrés oxidativo (Furukawa S). Si bien ha sido sugerido que el ejercicio físico es mejor que una dieta restringida en energía, este podría ser recomendado como un método esencial para la reducción de peso corporal (Wildman RP; Perseghin G). En este trabajo mostramos que el beneficio protector generado por el tratamiento de dieta hipocalórica fue reforzado por el ejercicio aeróbico moderado practicado con regularidad, el cual está relacionado con una inducción de enzimas antioxidantes. A pesar de que estas enzimas no fueron medidas, pudiera haber ocurrido una elevación de su actividad como ha sido reportado por de Lemos ET et al y Radák (de Lemos ET; Radak Z). Interesantemente, la actividad física tiene beneficios para los pacientes obesos, más aún, hay varias evidencias que han asociado al ejercicio con un daño musculo esquelético, el cual es causado por la generación de ERO durante un trabajo extenso de las células musculares (AlessioHM; Powers SK). Por consiguiente estimando el riesgo del estrés oxidativo inducido por el ejercicio es importante la planeación de la intensidad de la actividad física para pacientes obesos. Por esta razón, en este trabajo aplicamos dieta mas ejercicio aeróbico moderado como tratamiento durante tres meses, que podría generar una rápida adaptación de un paciente obeso al EO generado por ejercicio inicial (agudo), incrementando así la capacidad antioxidante del suero, atenuando el grado de cambio y generando menos efectos adversos durante el tratamiento del paciente obeso. De hecho, individuos que son particularmente susceptibles al EO inducido por el ejercicio o pacientes donde el ejercicio inicial (agudo) es un riesgo debido a una baja eficiencia de su sistema cardiovascular y alta incidencia de hipertensión arterial, este tratamiento podría ser la primera elección.

En este trabajo demostramos que la dieta combinada con ejercicio aeróbico moderado es un tratamiento efectivo para disminuir el estrés oxidativo en pacientes con obesidad.

7. CONCLUSIONES

X. CONCLUSIONES

Una vez expuestos los resultados y discutidos los mismos, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. El aumento de las concentraciones MDA (producto final de lipoperoxidación), carbonilos y ditirosinas (marcadores de daño a proteínas) y el incremento de los grupos SH (defensas antioxidantes), indicaron que el grupo obesidad 1 antes de las medidas terapéuticas se encontraban en un estado de estrés oxidativo.
2. La dieta hipocalórica por si sola y la combinación de dieta mas actividad física moderada es una alternativa efectiva para disminuir el estrés oxidativo, la resistencia a la insulina y para bajar de peso.
3. La insulina expuesta a sangre de mujeres con obesidad grado1 presentó cambios químicos observados mediante el incremento de carbonilos y formazan, además de cambios estructurales (formación de polímeros de insulina).
4. La dieta hipocalórica por si sola y la combinación de dieta mas actividad física moderada es una alternativa efectiva para disminuir modificaciones estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes con obesidad. La formación de polímeros de insulina disminuye con las intervenciones terapéuticas.

8. PERSPECTIVAS

XI. PERSPECTIVAS

Estos resultados sugieren, la existencia de un posible mecanismo de inactivación de la insulina que pudiera estar presente en personas obesas, además abre la posibilidad de plantear nuevas estrategias terapéuticas basadas en la prevención de la obesidad y las enfermedades crónicas degenerativas que se le relacionan.

9. BIBLIOGRAFÍA

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Secretaria de Salud México 2006. Resultados preliminares. Instituto Nacional de Salud Pública, Secretaría de Salud.
2. Encuesta Nacional de Salud 2010. Resultados Preliminares. Instituto Nacional de Salud Pública, Secretaría de Salud.
3. Cossío T, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Obesity in México: a growing national epidemic. *Ann Nutr Metab* 2001; 45(suppl 1):405.
4. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. ENSANUT 2006 Resultados Preliminares. Instituto Nacional de Salud Pública, Secretaría de Salud.
5. Kissebah AH, Peiris AN, Evans DJ. Mechanisms associating body fat intolerance and diabetes distribution to glucose mellitus: window with a view. *Acta Med Scand Suppl.* 1988; 723:79-89.
6. Zemel MB, Sun X. Dietary calcium and dairy products modulate oxidative and inflammatory stress in mice and humans. *inflammatory stress J Nutr.* 2008;138 (6):1047-52.
7. Reaven GM. Panminerva Insulin Insulin resistance, the insulin resistance Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Med. (Review)* 2005; 47(4):201-210.
8. Soler P, Luengo Márquez C. Arteriosclerosis, dislipemias, aneurismas, patología vascular periférica. En: F Guillén Lera, I Ruipérez Cantera. *Manual de Geriatria*, 3ª Ed. Barcelona: Masson; 2002. p. 317-328.
9. Dandona P, Aljada A. Metabolic síndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation; *Circulation.* 2005(Review); 111(11):1448-54.
10. Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. Reporte, Secretaría de Salud, 2003.
11. Estudio de costos económicos de la obesidad y sus patologías asociadas. En: Productos Roche SA: Estudio prospectivo Delphi. Libro Blanco. Costos sociales y

- económicos de la obesidad y sus patologías asociadas (hipertensión, hiperlipidemias y diabetes). 1999:51-66.
12. Estudio prospectivo Delphi. Costos sociales y económicos de la obesidad y sus patologías asociadas. Madrid: Gabinete de estudios Bernard Krief, 1999.
 13. Curti ML, Jacob P, Borges MC, Rogero MM, Ferreira SR. Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: implications for a nutrigenetic approach J Obes. 2011:43-49.
 14. Jiao H, Arner P. Genetic association and gene expression analysis identify FGFR1 as a new susceptibility gene for human obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96 (6):E962-966.
 15. Allison DB, Kaprio J. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. Int J Obes Relat Metab Disord. 1996; 20(6):501-506.
 16. Rivera Domarco. Análisis de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gasto de Hogares ENIGH) INEGI Public Health Nutrition, 2002:5 (1a):113-122.
 17. Rivera J, Barquera S, Campirano F, et al. Epidemiological and nutritional transition in Mexico: rapid increase of non-communicable chronic diseases and obesity. Public Health Nutrition 2002; 5(1a):113-122.
 18. Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México 2009
 19. Willet W. Nutritional epidemiology. 2ª edición. Nueva York, NY: Oxford University Press, 1998.
 20. Veerman JL, Healy GN. Television viewing time and reduced life expectancy: a life table analysis. Br J Sports Med 2011; 22:145-154.
 21. Hernández B, Gortmaker SL, Golditz GA, et al. Association of obesity with physical activity, television programs and other forms of video viewing among children in México City. Int J Obes 1999; 23:845-854.
 22. Dietz WH, Gortmaker SL. Do we fatten our children at the television set? Obesity and television viewing in the children and adolescents. Pediatrics 1985; 75:807-812.

23. Gortmaker, Must A, Sobol A, et al. Television viewing as a cause of increasing obesity among children in the United States, *Arch Pediatr Adolesc Med* 1996; 150:356-362.
24. Moreno B. *Obesidad, presente y futuro*. Madrid: Laboratorios Roche, 1997.
25. SEP Secretaria de Educación Pública Programa de Detección de Obesidad Infantil en el Distrito Federal (D.F). 2010.
26. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25:4-7.
27. Das UN. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition* 2001; 17: 953-966.
28. Moreno-Aliaga A MJ, Campion J, Milagro F, Berjon A, Martinez JA. Adiposity and proinflammatory state: the chicken or the egg *Adipocytes* 2005; 1: 1-13.
29. Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. *J Biol Chem*.1997; 272(2):971-976.
30. Niki E; Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers. *Biofactors*. (review) 2008;34 (2):171-180.
31. Naik E, Dixit VM. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production; *J Exp Med* (review). 2011; 208(3):417-20. Epub 2011 Feb 28.
32. Medina Navarro R. Especies reactivas del oxígeno (ERO): bioquímica inorgánica y biomedicina. JJ Hicks. En *Bioquímica*. México. McGraw-Hill 2a ed, 2007; Cap 38; p580-600.
33. Medina Navarro R. y Hicks JJ. Especies reactivas del oxígeno (ERO): bioquímica inorgánica y biomedicina. JJ Hicks. En *Bioquímica*. México. McGraw-Hill 2a ed, 2007; Cap 39; p689-708.
34. Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G et al. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol* 2004; 561:1-25.
35. Allen LA; Mechanisms of pathogenesis: evasion of killing by polymorphonuclear leukocytes; *Micorbes Infect*.2003 Nov;5(14):1329-35
36. John LJ; Fromm M; Epithelial barriers in intestinal inflammation; *Antioxid Redox Signal* 2011 Sep 1;15(5):1255-70 Epub 2011 May 11.

- 37.Sohal RS, Forster MJ; Coenzyme Q, oxidative stress and aging;Mitochondrion; 2007 Jun;7 Suppl:S103-111
- 38.Bannister WH, Bannister JV; Factor analysis of the activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in normal tissues and neoplastic cell lines; Free Radic Res Commun 1987;4(1):1-13.
- 39.Koppenol WH; The Haber-Weiss cycle--70 years later. Redox Rep; 2001;6 (4):229-34.
- 40.Liochev SI, Fridovich I. The Haber-Weiss cycle -- 70 years later: an alternative view; Redox Rep; 2002; 7(1):55-57
- 41.Yun R, Dourmashkin JT, Hill JO, et al. PVN galanin increases fat storage and promotes obesity by causing muscle to utilize carbohydrate more than fat. Peptides,2005; 26: 265-273.
- 42.Janssen YM, Persinger RL. Reactive nitrogen species and cell signaling: implications for death or survival of lung epithelium; Am J Respir Crit Care Med; 2002 Dec 15;166(12 Pt 2):S9-S16.
- 43.Soskijć SS, Dobutović BD; Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and its Potential Role in Insulin Resistance, Diabetes and Heart Failure; Open Cardiovasc Med J; 2011;5:153-163.
- 44.Ho YS., Howard AJMolecular structure of a functional rat gene for manganese-containing superoxide dismutase. AM J Respir Cell Mol Biol,1991; 4(3):278-286.
- 45.Marklund SL; Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight; Proc Natl Acad Sci USA. 1982; 79 (24):7634-7638.
- 46.Tainer JA, Getzoff ED. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase; Nature 1983; 306(5940):284-287.
- 47.Nakashima H, Yamamoto M; Isolation and characterization of the rat catalase-encoding gene;79(2):279-288
- 48.Aebi HE. Catalase, In: Methods of Enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, 1982.
- 49.Hill KE, Lyons PR, Burk RF. Differential regulation of rat liver selenoprotein mRNAs in selenium deficiency. Biochem Biophys Res Commun.1992; 185:260-263.

50. Takebe G, Yyarimizu J; A comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P. *J Biol Chem*. 2002;277(43):254-258.
51. Takahashi K, Avissar N, Whithin J, Cohen H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: A selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys*, 1987; 256(2):677-686.
52. Chu FF, Esworthy RS, Doroshov JH, Doan K, Liu XF. Expression of plasma glutathione peroxidase in human liver in addition to kidney, heart, lung and breast in human and rodents. *Blood*, 1992; 79(12):3233-3238.
53. Maddipati KR, Marnett LJ. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. *J Biol Chem*, 1987; 262(36):17398-17403.
54. Chu FF, Esworthy RS. The expression of an intestinal form of glutathione peroxidase (GSHP-GI) in rat intestinal epithelium. *Arch Biochem Biophys*, 1992; 323(10):288-294.
55. Roveri A, Casasco A, Maiorino M, Dalan P, Calligaro A, Ursini F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase of rats testis. *J Biol Chem*, 1992; 267:6142-6146.
56. Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Blocker H, Gross G, Kiess M, Kloppel KD, Maiorino M, Roveri A, Schuckelt R, Ursini F, Wingender E, Flohé L. Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA and deduced amino acid sequence. *J Biol Chem*, 1994; 269(10):7342-7348.
57. Olivares Corichi, IM, Ceballos, G, Ortega Camarillo, et al. Reactive oxygen species (ROS) induce chemical and structural changes on human insulin in vitro, including alterations in its immunoreactivity. *Frontiers Bioscience* 2005^{a,b}; 10:838-843.
58. Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, et al. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension*. 2001; p554-60.
59. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papademetriou L, Economou M, Stefanadis C. The implication of obesity on total antioxidant

- capacity apparently healthy men and women: The ATTICA study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2007;17:590–597
60. Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohantym P, Dandona P. Prolonged reactive oxygen species generation and Nuclear Factor- κ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007;92: 4476–4479.
61. Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, et al. Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(3):434-439.
62. Morrow J. Is a oxidative stress a connection between obesity and atherosclerosis. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 2003; 23:368–370.
63. Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Jukic L, Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World. J. Gastroenterol.* 2007; 13: 4539–4550.
64. Khan N, Naz L, Yasmeen G. Obesity: An independent risk factor systemic oxidative stress. *Park. J. Pharm. Sci.* 2006;19:62–69
65. Martínez J. Mitochondrial oxidative stress and inflammation: A slalom to obesity and insulin resistance. *J. Physiol. Biochem.* 2006;62:303–306
66. Monteiro R, Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators. Inflamm;* 2010:289-292.
67. Amirkhizi F, Siassi F, Minaie S, Djalali M, Rahimi A, Chamari M. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidación and oxidative stress in women. *ARYA Atheroscler. J.* 2007; 2:189–192.
68. Vincent H, Vincent K, Vourguignon C, Braith R. Obesity and postexercise oxidative stress in older women. *Med. Sci. Sports Exer.* 2005; 37:213–219.
69. Chakraborty K, Khan GA, Banerjee P, Ray U, Sinha AK. Inhibition of human blood platelet aggregation and the stimulation of nitric oxide synthesis by aspirin. *Platelets.* 2003; 14: 421–427.
70. Chakraborty K, Khan GA, Banerjee P, Ray U, Sinha AK. Inhibition of human blood platelet aggregation and the stimulation of nitric oxide synthesis by aspirin. *Platelets.* 2003; 14: 421–427.

- 71.Hadi H, Carr C, Suwaidi J. Endothelial dysfunction: Cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc. Health Risk Manage.* 2005;1:183–198
- 72.Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 Mar 1; 23(3):365-367.
- 73.Fenster BE, Tsao PS, Rockson SG. Endothelial dysfunction: clinical An oxidative stress? *Am J Respir. Crit Care Med.* 2002; 165:859-860.
- 74.El Hafidi M, Pérez I, Zamora J, et al. Oxidative stress in the Dahl hypertensive rat. *Hypertensio.*1997; 30:1628-1633.
- 75.McBride, Nick J.R, Brain Anna F, Et al. Cardiovascular and Oxidative Stress. *Hypertension.* 2005; 45: 636.
- 76.Perticone. Oxidative Stress Contributes To Endothelial Dysfunction In Obese. *Obesity.* 2001;165: 858-861.
- 77.Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:1135-1143.
- 78.Pessayre D. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Relationship to Insulin Sensitivity and Oxidative Stress. *Altern Med Rev* 2002; 7(4):276-291.
- 79.Bastarrachea R, López J, Bolado N, Téllez J, Laviada H, Comuzzie A. Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gac. Méd. Méx.* 2007;143:505–512
- 80.Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8 + effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* 2009;15:914–920
- 81.Browning and Horton: Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury *J. Clin. Invest.* 2004; 114 (2): 147-152.
- 82.Browning JD, Horton JD. T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity. *Free Radic Re.* 2004; 38: 535–539.
- 83.Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, et al. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94: 2557-2562.

- 84.Yeon JE, Choi KM, Baik SH, et al. Reduced expression of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha may have an important role in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 19: 799-804.
- 85.Guyton AC, Hall JE. Insulina, glucagón y diabetes mellitus. En *Tratado de Fisiología Médica*, Guyton AC, Hall JE. Capítulo 78, p1063-1079. McGraw Hill. Décima edición. 2001.
- 86.Stadtman ER. Metal ion-catalized oxidation of proteins: biochemical mechanisms and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 1991; 9(4):315-325.
- 87.Davies KJ. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *J Biol Chem*.1987 262(20):9895-9901.
- 88.Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*.1994; 74(1):139-162.
- 89.Rana JS, Nieuwdorp M, Jukema JW, Kastelein JJ. Cardiovascular metabolic syndrome - an interplay of, obesity, inflammation, diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Obes Metab* 2007; (9):218-232.
- 90.Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 355-362.
- 91.Tainer JA, Getzoff ED, Richardson JS, et al. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature*.1983; 306:284-287.
- 92.Marklund SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chem Acta*. 1982; 126(1):41-51.
- 93.Nakashima H, Yamamoto M, Goto K, et al. Isolation and characterization of the rat catalase-encoding gene. *Gene* 1989; 79(2):279-288.
- 94.Racette. *Arterioscler Throm Vasc Biol Exercise and Physical Activity in the prevention and treatment of atherosclerotic Cardiovascular disease* 2003; 23.
- 95.McDonald J, Galley HF, Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis. *Br J Anaesthesia* 2003; 90:221-232.

96. Pittaluga M, Parisi P, Sabatini S, et al. Cellular and biochemical parameters of exercise-induced oxidative stress. Relationship with training levels. *Free Rad Res* 2006; 40: 607-614.
97. Cases N, Sureda A, Maestre I, et al. Response of antioxidant defenses to oxidative stress induced by prolonged exercise: antioxidant enzymes gene expression in lymphocytes. *Eur J Appl Physiol* 2006; 98:263-269.
98. Knez WL, Coombes JS, Jenkins DG. Ultra-endurance exercise and oxidative damage. Implications for cardiovascular health. *Sports Med* 2006; 26: 429-441.
99. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 2004; 53(1):110-118.
100. Stuehr DJ, Wei cc, Radical reactions of nitric oxide synthases. *Biochem Soc Symp* 2004; (71):39-49.
101. Pittaluga M, Parisi P, Cellular and biochemical parameters of exercise-induced oxidative stress: relationship with training levels. *Free Radic Res* 2006; 40(6):607-614
102. Elokda AS, Shields RK, Nielsen DH. Effects of maximal graded exercise test on glutathione as a marker of acute oxidative stress. *J Cardiopul Rehab* 2005; 25: 215-219.
103. Wang JS, Lee T, Chow SE. Role of exercise intensities in oxidized low-density lipoprotein-mediated redox status of monocyte in men. *J Appl Physiol* 2006; 101:740-744.
104. Connelly L, Jacobs AT, Palacios-Callender M, et al. Macrophage endothelial nitric-oxide synthase autoregulates cellular activation and pro-inflammatory protein expression. *J Biol Chem* 2003; 278: 26480-26487.
105. Gómez Cabrera MC, Borrás C, Pallardo FV, et al. Decreasing xantine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.* 2005; 567:113-120.
106. Ji LL, Gómez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis. Activation of celular antioxidantg signaling pathway. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1067:425-435.

107. Chicco AJ, McCarty H, Reed AH, et al. Resistance exercise training attenuates alcohol-induced cardiac oxidative stress. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006; 13: 74-79.
108. Ashton T, Young IS, Davison GW, et al. Exercise-induced endotoxemia: the effect of ascorbic acid supplementation. *Free Rad Biol Med* 2003; 35: 284-291.
109. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, et al. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation in ultramarathon runners. *Free Rad Biol Med* 2004; 36: 1329-1341.
110. García-López D, Cuevas MJ, Almar M, et al. Effects of eccentric exercise on NF- κ B activation in blood mononuclear cells. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 653-664.
111. Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 234-239.
112. Bloomer RJ, Falvo MJ, Fry AC, et al. Oxidative stress response in trained men following repeated squats or springs. *Med Sci Sports Exerc*, 2006; 38: 1436-1442.
113. Lotter EC, Woods SC. Injections of insulin and changes of body weight. *Physiol Behav* 1977; 18: 293-297.
114. Flier JS, Lowell B, Napolitano A, et al. Adipsin: regulation and dysregulation in obesity and other metabolic states. *Recent Prog. Horm. Res* 1989; 45: 567-580.
115. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432.
116. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, et al. Dityrosine: Preparation, Isolation and Analysis. *Anal Biochem.* 1996; 242: 202-213.
117. Wortley KE, Chang GQ, Davydova Z, et al. Peptides that regulate food intake: orexin gene expression is increased during states of hypertriglyceridemia. *Am J Physiol Regul. Integr Comp Physiol.* 2003; 284: 1454-1465.

118. Lam TK, Pocai A, Gutiérrez-Juárez R, et al. Hypothalamic sensing of circulating fatty acids is required for glucose homeostasis. *Nat Med* 2005; 11: 320-327.
119. Yun R, Dourmashkin JT, Hill JO, et al. PVN galanin increases fat storage and promotes obesity by causing muscle to utilize carbohydrate more than fat. *Peptides*,2005; 26: 2265-2273.
120. Beck B, Stricker-Krongrad A, Burlet A, Cumin F, et al. Plasma leptin and hypothalamic neuropeptide Y and galanin levels in Long-Evans rats with marked dietary preferences, *Nutr Neurosci* ,2001; 4: 39-50.
121. Stanley BG, Daniel DR, Chin AS, Leibowitz SF. Paraventricular nucleus injections of peptide YY and neuropeptide Y preferentially enhance carbohydrate ingestion. *Peptides* ,1985; 6: 1205-1211.
122. Akabayashi A, Koenig JI, Watanabe Y, et al. Galanin-containing neurons in the paraventricular nucleus:a neurochemical marker for fat ingestion and body weight gain.*Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91: 375-379.
123. Clegg DJ, Air EL, Woods SC, Seeley RJ. Eating elicited by orexin-A, but not melanin-concentrating hormone, is opioid mediated. *Endocrinology*, 2002; 143: 2995-3000.
124. Chang GQ, Karatayev O, Davydova Z, et al. Circulating triglycerides impact on orexigenic peptides and neuronal activity in hypothalamus. *Endocrinology*, 2004; 145: 3904-3912.
125. Leibowitz SF, Akabayashi A, Wang J. Obesity on a high-fat diet: role of hypothalamic galanin in neurons of the anterior paraventricular nucleus projecting to the median eminence. *J Neurosci*, 1998; 18: 2709-2719.
126. Norma Oficial Mexicana para el manejo y control de la Obesidad Nom 174
127. Boden G, Sargrad K, Homko C, et al. Effect of a low-carbohydrate diet on appetite, blood glucose levels, and insulin resistance in obese patients with type 2 diabetes. *Ann Intern Med*,2005; 142: 403-411.
128. Srinivasan M, Aalinkeel R, Song F, et al. Programming of islet functions in the progeny of hyperinsulinemic/obese rats. *Diabetes*, 2003; 52: 984-990.

129. Obici S, Feng Z, Tan J, et al. Central melanocortin receptors regulate insulin action. *J Clin Invest*, 2001; 108: 1079-1085.
130. Zarjevski N, Cusin I, Vettor R, et al. Intracerebroventricular administration of neuropeptide Y to normal rats has divergent effects on glucose utilization by adipose tissue and skeletal muscle. *Diabetes*, 1994; 43: 764-769.
131. Adrian TE, Bacarese-Hamilton AJ, Smith HA, Chohan P, Manolas KJ, et al. Distribution and postprandial release of porcine peptide YY. *J Endocrinol*, 1987; 113: 11-14.
132. Lundberg JM, Tatemoto K, Terenius L, et al. Localization of peptide YY (PYY) in gastrointestinal endocrine cells and effects on intestinal blood flow and motility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982; 79: 4471-4475.
133. Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, et al. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest*, 2001; 108: 635-636.
134. Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, et al. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98: 9116-9121.
135. Iizuka K, Bruick RK, Liang G, et al. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101: 7281-7286.
136. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 2002; 420: 333-336.
137. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*, 2004; 92: 347-355.
138. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 2002; 30: 620-650.
139. Milagro FI, Campeón J, Martínez JA. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)*, 2006; 14: 1118-1123.

140. Pocai A, Lam TKT, Obici S, et al. Restoration of hypothalamic lipid sensing normalizes energy and glucose homeostasis in overfed rats. *J Clin Invest*, 2006; 116: 1081-1091.
141. Chang GQ, Karatayev O, Davydova Z, et al. Circulating triglycerides impact on orexigenic peptides and neuronal activity in hypothalamus. *Endocrinology*, 2004; 145: 3904-3912.
142. Bjorkbacka H, Kunjathoor VV, Moore KJ, et al. Reduced atherosclerosis in MyD88-null mice links elevated serum cholesterol levels to activation of innate immunity signaling pathways. *Nat Med*, 2004; 10: 416-421.
143. Gao Z, Zhang X, Zuberi A, et al. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*, 2004; 18: 2024-2034.
144. Moustaid N, Beyer RS, Sul HS. Identification of an insulin response element in the fatty acid synthase promoter. *J Biol Chem*, 1994; 269: 5629-34.
145. Ishii S, Iizuka K, Miller BC, et al. Carbohydrate response element binding protein directly promotes lipogenic enzyme gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101: 597-560.
146. Xiong S, Chirala SS, Hsu MH, et al. Identification of thyroid hormone response elements in the human fatty acid synthase promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95: 260-265.
147. Clarke SD, Armstrong MK, Jump DB. Dietary polyunsaturated fats uniquely suppress rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA content. *J Nutr*, 1990; 120: 225-231.
148. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur J Biochem*, 1997; 244: 1-14.
149. López M, Lelliott CJ, Tovar S, et al. Tamoxifen-induced anorexia is associated with fatty acid synthase inhibition in the ventromedial nucleus of the hypothalamus and accumulation of malonyl-CoA. *Diabetes*, 2006; 55: 1327-1336.
150. Cha SH, Hu Z, Chohnan S, Lane MD. Inhibition of hypothalamic fatty acid synthase triggers rapid activation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005; 102: 557-562.

151. Jean C, Rome S, Mathe V, et al. Metabolic evidence for adaptation to a high protein diet in rats. *J Nutr*, 2001; 131: 91-98.
152. Olszewski PK, Wirth MM, Shaw TJ, et al. Peptides that regulate food intake: effect of peptide histidine isoleucine on consummatory behavior in rats. *Am J. Physiol* 2003; 284-287.
153. Petrovich GD, Setlow B, Holland PC, et al. Amygdalohypothalamic circuit allows learned cues to override satiety and promote eating. *J Neurosci*, 2002; 22: 8748-8753.
154. Darcel N, Fromentin G, Raybould HE, et al. Fos-positive neurons are increased in the nucleus of the solitary tract and decreased in the ventromedial hypothalamus and amygdala by a high-protein diet in rats. *J Nutr*, 2005; 135: 1486-1490.
155. Konturek SJ, Meyers CA, Kwiecien N, Obtulowicz W, Tasler J, Oleksy J, et al. Effect of human pancreatic polypeptide and its C-terminal hexapeptide on pancreatic secretion in man and in the dog. *Scand J Gastroenterol*, 1982; 17: 395-399.
156. Batterham RL, Le Roux CW, Cohen MA, et al. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88: 3989-3992.
157. Paolisso G, Scheen A, D'Onofrio F, et al. Magnesium and glucose homeostasis. *Diabetología* 1990; 33: 511-514
158. Takaya J, Higashino H, Kobayashi Y. Intracellular magnesium and insulin resistance. *Magnes Res*, 2004; 17: 126-136.
159. Barbagallo M, Domínguez LJ, Galioto A, et al. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Mol Aspects Med* 2003; 24: 39-52.
160. Olivares Corichi, IM, Ceballos, G, Ortega Camarillo, et al. Reactive oxygen species (ROS) induce chemical and structural changes on human insulin in vitro, including alterations in its immunoreactivity. *Frontiers Bioscience*. 2005b; 10:838-843.

161. Montes Cortes, Olivares Corichi Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation with blood from diabetic patients in oxidative stress, *Metabolism* 2010 Jul;59(7):935-942.
162. Olivares-Corichi, Rincon Viquez, Oxidative Stress Present in the Blood from Obese Patients Modifies the Structure and Function of Insulin Horm *Metab Res* 2011; 43: 748–753.
163. Torres Ramos, Sierra Vargas Marcadores plasmáticos de estrés oxidante en población mexicana sana de 31 a 60 años de edad. *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex.* [online]. 2006, vol.19, n.3, pp. 206-213.
164. Kaufer M, Tavano L, Ávila H: Obesidad en el adulto. *Nutriología médica*. Editorial Panamericana. 2001. Segunda Edición. p123-130.
165. Després JP, Lemieux I, Prud'homme D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients. *BMJ*, 2001: 716-720.
166. Callaway CW, Chumlea WC, Bouchard C, et al. Circumferences. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. *Anthropometric standardization reference manual*. Campaign: Human Kinetics Books, 1991: 44-45.
167. Han TS, Van Leer EM, Seidell JC, et al. Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *Br Med J*, 1995; 311(7017):1401-1405.
168. Ardern Ch, Katzmarzyk P, Janssen I, et al : Discrimination of health risk by combined body mass index and waist circumference. *Obes Res*, 2003; 11: 135-142.
169. Norma Oficial Mexicana para el manejo y control de la Obesidad Nom 174
170. Sigma. St. Louis, MO, USA: <http://www.sigmaaldrich.com/mexico.html>.
171. Giulivi C, Traaseth NJ, Davies KJ. Tyrosine oxidation products: analysis and biological relevance. *Amino Acids*. 25(3-4):227-232, 2003.
172. Heineck, Jay W. Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima. *J. Bio. Chem.* 1997; 272, 1433-1436.
173. Ellman GI. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959 May;82(1):70-77.

174. Gieseg SP, Simpson JA, Charlton TS. et al. Protein bound 3,4 dihydroxyphenylalanine is a major reductant formed during hydroxyl radical damage to proteins. *Biochemistry*.1993; 32 (18):4780-4786.
175. Merril CR, Gel-staining techniques *Methods Enzymol* 1990; 182:477-88 .
176. Holvoet P. Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and inflammation and cardiovascular disease. *Verh K. Acad Geneesk Belg* 2008;70(3):193-219
177. Gupta D, Krueger CB, Over-nutrition, obesity and insulin resistance in the development of β cell dysfunction. *Curr Diabetes Rev* 2012 Jan 10:8(1).
178. Apostolopoulou M, Savopoulos C. Age, weight and obesity. *Mauritas* 2012 Feb;71(2):115-119.

10. ANEXOS

ANEXO I: REGISTRO DEL PROYECTO DE INVESTIGACION EN EL IPN



Instituto Politécnico Nacional
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

"2010, Año de la Patria Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución"
"75 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Juan de Dios Bátiz"
"70 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Miguel Othón de Mendizábal"
"45 Aniversario del Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos Narciso Bassola"
"30 Aniversario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Michoacán"



SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

SIP/DI/DOPI/2106/10

C. IVONNE MARÍA OLIVARES CORICHI
PROFESOR A INVESTIGADORA
ESM
P R E S E N T E.

Por este conducto y con fundamento en la información existente en los archivos de esta Dirección de Investigación, reconoce que se encuentra registrada en el siguiente proyecto de investigación.

CLAVE	TÍTULO DEL PROYECTO	ACTIVIDAD	AVANCE
20090030	EFEECTO DE LA DIETA Y EL EJERCICIO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN PLASMA DE PACIENTES OBESAS	DIRECTORA	100%

Se extiende la presente a los veinte días del mes de septiembre del dos mil diez.

Atentamente
"LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA"

DR. HEBERTO BALMORI RAMÍREZ
Director de Investigación

SECRETARÍA DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

HBR/MEL*meq

Edificio de la Secretaría Académica, 2do. Piso Av. Luis Enrique Erro s/n.,
Unidad Profesional "Adolfo López Mateos", Zacatenco
t. +52 (55) 5729 6000 | exts.: 50475, 50483, 50504 | www.sip.ipn.mx



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
INFORME TÉCNICO FINAL DE PROYECTOS DE
INVESTIGACIÓN
(Enero 2009 - Diciembre 2009)

Este formato presenta los aspectos necesarios para la elaboración del Informe Técnico Final de los proyectos de investigación que se registraron en la Coordinación General de Posgrado de Investigación (CGPI) para su desarrollo durante el periodo (Enero 2009 - Diciembre 2009).

La información que se solicita es la mínima necesaria para documentar y evaluar el avance de los proyectos de investigación, por lo que es indispensable que se requirite sin omisiones.

Identificación del proyecto

<u>ESM</u> Escuela, Centro o Unidad	<u>20090030</u> Clave del Proyecto
Título EFECTO DE LA DIETA Y EL EJERCICIO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN PLASMA DE PACIENTES OBESAS	
Programa en donde se ubica el Proyecto -- Ningún programa asociado --	

Responsabilidad técnica y administrativa

<u>Ivonne María Olivares Corichi</u> Nombre del Director(a) del proyecto	_____ Nombre del Director(a) de la Escuela, Centro o Unidad
---	--

La presentación deberá hacerse de acuerdo a la siguiente estructura:

1. Descripción del Informe

1.1 Resumen

Varios estudios han descrito que la obesidad se asocia a un proceso inflamatorio y que este a su vez está estrechamente ligado al estado metabólico de estrés oxidativo, condición que promueve el daño a las biomoléculas entre ellas las proteínas, como podría ser el caso de la insulina. Recientemente se demostró que la sangre de pacientes diabéticos y obesas tienen la capacidad de oxidar a la hormona peptídica insulina

alterando su estructura y función. Es por esto que nosotros estamos interesados en buscar una estrategia para disminuir el estrés oxidativo en este tipo de pacientes. En este trabajo se plantea la posibilidad de que el daño por estrés oxidativo por el que cursan las pacientes obesas se vea disminuido en mayor medida, al aplicar de manera simultánea una dieta hipocalórica, actividad física programada (ejercicio moderado) y antioxidantes. El complementar estos procedimientos que aminoran el estrés oxidativo podrían ser un coadyuvante para un tratamiento preventivo para evitar la oxidación de la insulina y disminuir el riesgo de las complicaciones como es la resistencia a la insulina y posteriormente la diabetes. Los resultados fueron: 1) La dieta hipocalórica bajar de peso a las pacientes y disminuye el estrés oxidativo. 2) La combinación de dieta hipocalórica y ejercicios bajo las condiciones de este trabajo puede ayudar a bajar de peso al paciente, pero es menos útil para reducir el estrés oxidativo y 3) La combinación de dieta más ejercicio más antioxidante ayuda a bajar de peso pero el estrés oxidativo no disminuye.

1.2 Palabras Clave

dieta, ejercicio, antioxidantes, estrés oxidativo

Profesores participantes

Número	NOMBRE DEL PARTICIPANTE	PRINCIPALES ACTIVIDADES REALIZADAS	PERIODO	
			DE	A
1	José Rubén García Sánchez	Actividades: Participo en el análisis de muestras y escritura del artículo.	dd/mm/aaaa 01/01/2009	dd/mm/aaaa 31/12/2009
2	Eleazar Lara Padilla	Actividades: participo en la seleccion y seguimiento de las pacientes y asesoria de la tesista	dd/mm/aaaa 01/01/2009	dd/mm/aaaa 31/12/2009

Desarrollo técnico de la investigación

Ejercicio de presupuesto total

Presupuesto del proyecto	IPN/SIP		Otras fuentes de financiamiento*	
	Asignado	Ejercido	Asignado	Ejercido
Gasto Corriente	49999	49999		
Inversión	0	0		
Total	49999	49999	No aplica	No aplica

* Especifique el nombre de la fuente de financiamiento: Sin fuente de financiamiento externo

Producto(s) obtenido(s)

Número	Descripción
1	Se recomienda que una vez obtenidos los beneficios de la dieta que se observaron en este trabajo, se proceda a suplementar con los antioxidantes para aumentar la capacidad antioxidante del paciente y no tengan el efecto prooxidante observado en estas condiciones de tratamiento.
2	Con estos resultados se pudo completar una tesis de maestría y completar 2 publicaciones y asistir a congresos.

Subproductos obtenidos**1. Subproductos técnicos:****2. Formación de recursos humanos:****2.1 Estudiante PIFI**Nombre: LUIS ANTONIO SALAZAR ESTRADANivel: SuperiorSemestre: 6Tiene constancia de aceptación: SiEstado actual del alumno: No terminado o en procesoActividad:
participacion en metas.**2.1 Estudiante PIFI**Nombre: José Roberto López HernándezNivel: SuperiorSemestre: 10Tiene constancia de aceptación: SiEstado actual del alumno: No terminado o en procesoActividad:
Participación en metas.**2.1 Estudiante PIFI**Nombre: María de Jesús Rincón Víquez

Nivel: PosgradoSemestre: 4Tiene constancia de aceptación: NoEstado actual del alumno: No terminado o en proceso

Actividad
Participación en metas.

2.4 TesisNombre: LILIANA GUTIERREZ LOPEZNivel: PosgradoTipo: TesisFecha de registro: 01/01/1900Fecha de examen: 01/06/2009El alumno proviene de una institución externa al IPN: SiNombre de la institución del alumno: Universidad Pablo de Olavide, De sevilla España

Tema
Efecto de la dieta, el ejercicio y los antioxidantes sobre el estrés oxidativo en pacientes obesas.

Actividad
Búsqueda bibliográfica, recopilación y procesamiento de muestras, estandarización de técnicas, escritura de tesis

Profesor responsable:

► (Director) Ivonne María Olivares Corichi
► (Codirector) Elezar Lara Padilla

3. Difusión de la investigación:**3.2 Conferencias**Tipo: NacionalFecha de realización: 29/05/2009

Título
Efecto del estrés oxidativo presente en pacientes obesos y diabéticos, sobre la estructura y función de la insulina.

Lugar

Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
Distrito

Profesor responsable:

► Ivonne María Olivares Corichi

3.2 Conferencias

Tipo: Nacional

Fecha de realización: 06/11/2009

Título
Efecto del estrés oxidativo presente en pacientes obesos y diabéticos, sobre la estructura y función de la insulina

Lugar
Monterrey, México.

Profesor responsable:

► Ivonne María Olivares Corichi

3.2 Conferencias

Tipo: Internacional

Fecha de realización: 03/11/2009

Título
EFECTO DE LA DIETA Y EL EJERCICIO SOBRE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS MULTIMÉRICOS DE INSULINA, INDUCIDOS POR EL ESTRÉS OXIDATIVO EN SANGRE DE PACIENTES OBESAS.

Lugar
Monterrey, México.

Profesor responsable:

► Ivonne María Olivares Corichi
► José Rubén García Sánchez

3.2 Conferencias

Tipo: Internacional

Fecha de realización: 03/11/2009

Título
OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LA INSULINA MODIFICADA POR EL ESTRÉS

OXIDATIVO PRESENTE EN LA SANGRE DE PACIENTES OBESAS.

Lugar
Monterrey, México

Profesor responsable:

- ▶ Ivonne María Olivares Corichi
- ▶ José Rubén García Sánchez

3.2 Conferencias

Tipo: Internacional

Fecha de realización: 03/11/2009

Título
EFECTO DE LA DIETA, EL EJERCICIO Y LOS ANTIOXIDANTES SOBRE EL ESTRÉS
OXIDATIVO EN EL PLASMA DE PACIENTES OBESAS

Lugar
Monterrey, México.

Profesor responsable:

- ▶ Ivonne María Olivares Corichi
- ▶ José Rubén García Sánchez
- ▶ Elezar Lara Padilla

3.3 Artículos Científicos

Tipo: Internacional

Fecha de realización: 16/12/2009

País: United States

ISSN: 1532-8600

Revista: Metabolism Clinical and Experimental.

Título
Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation
with blood from diabetic patients in oxidative stress.

Profesor responsable:

- ▶ (Coautor) Ivonne María Olivares Corichi
- ▶ (Coautor) Ivonne María Olivares Corichi
- ▶ (Coautor) José Rubén García Sánchez

3.3 Artículos Científicos

Tipo: InternacionalFecha de realización: 01/01/2010País: United StatesISSN: 1940-6029Revista: Methods Mol Biol.**Título**

Structural and functional changes in the insulin molecule produced by oxidative stress

Profesor responsable:

► (Coautor) Ivonne María Olivares Corichi

► (Coautor) Ivonne María Olivares Corichi

ANEXO II: CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACION

Título de la investigación:

ESTADO OXIDANTE/ANTIOXIDANTE EN PACIENTES OBESAS ANTES Y DESPUÉS
DE UNA DIETA Y EJERCICIO: CAMBIOS ESTRUCTURALES DE LA INSULINA
EXPUESTA A SANGRE DE PACIENTES OBESAS

Investigador principal:

Dra. Ivonne María Olivares Corichi

Investigadores colaboradores:

Dr. Eleazar Lara Padilla

Dra Liliana Gutiérrez López

**Escuela Superior de Medicina, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación.
Instituto Politécnico Nacional.**

INVITACIÓN: La estamos invitando a participar en esta investigación que consiste en hacerle exámenes de la sangre, para valorar los efectos de un programa de ejercicio aeróbico controlado, dieta hipocalórica sobre el estrés oxidativo.

PROPÓSITO: Los investigadores quieren aprender más sobre la obesidad. Esta investigación es necesaria porque al momento no hay mucha información sobre estrés oxidativo en nuestra población.

PROCEDIMIENTOS:

Muestra de sangre: Un médico, una enfermera o un técnico autorizado le sacarán 20 ml de sangre de una vena dos veces (antes y después de las intervenciones).

RIESGOS POSIBLES:

Muestra de sangre: Usted puede sentir molestia, sangrar y/o tener un moretón. Podría sentirse mareado o desfallecido.

Otros riesgos: Alguna herida por caída de la banda sin fin.

Qué hacer si usted tiene problemas: Si usted tiene un problema médico después de que le saquen sangre para esta investigación un médico asociado a esta investigación puede recomendarle tratamiento. Por favor repórtele el problema a la Dra. Ivonne Maria Olivares Corichi o al Dr. Eleazar Lara Padilla o a la Dra Liliana Gutiérrez López lo más pronto posible. Llame al teléfono 57 29 60 00 extensión 62793 o comuníquese

directamente con ellos en el edificio de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional (planta baja), lugar donde se llevará a cabo la investigación.

BENEFICIOS POSIBLES

Para usted: Disminución de su índice de masa corporal y mejora de su condición cardiovascular y de diversas variables sanguíneas (como glucosa y perfil de lípidos)

Para otros: Los resultados de esta investigación pueden ayudar a otras personas en el futuro. Nueva información puede conducir a mejoras en el cuidado médico y tratamiento para la obesidad.

PAGO POR TOMAR PARTE EN ESTA INVESTIGACIÓN: No se le pagará por tomar parte en esta investigación.

COSTOS A USTED: No le costará nada a usted por que le saquen sangre y por examinarla en un laboratorio de investigación. Gastos por exámenes regulares de salud o cuidado por cualquier problema médico durante la investigación son su responsabilidad. No hay fondos para pagarle por gastos de transportación del o al centro de investigación, tiempo perdido fuera del trabajo y otras actividades, sueldo perdido, o gastos de cuidado de niños.

COMPENSACIÓN POR HERIDA: No hay compensación por una herida física u otra complicación que resulte de su participación en esta investigación, por parte de la Escuela Superior de Medicina, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional. Sin embargo, usted retiene sus derechos legales durante su participación en esta investigación.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA EN INVESTIGACIÓN: Usted tiene derecho a consentir en participar o rehusarse a participar en esta investigación. Si usted decide participar y más tarde cambia de parecer, está libre a discontinuar su participación a cualquier hora.

DOCUMENTOS DE SU PARTICIPACIÓN EN ESTA INVESTIGACIÓN

Información guardada en la Escuela Superior de Medicina, Sección Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional: Usted tiene derecho a la privacidad. Los Drs. Ivonne Maria Olivarez Corichi, Eleazar Lara Padilla y Liliana Gutiérrez López y demás investigadores asociados guardarán la información de su participación en archivos cerrados con llave o clave. Ellos limitarán acceso a la información en estos archivos a personas que tienen que ver directamente con la investigación en la Escuela Superior de Medicina, Sección Estudios de Posgrado e Investigación del IPN.

Un Comité de Ética Institucional (CEI) es un grupo de personas que son responsables de asegurar a la comunidad que se respeten los derechos de participantes en investigación. Los miembros del CEI en este centro pueden revisar los documentos de su participación en esta investigación, pero no los resultados de exámenes en un

laboratorio de investigación. Con su permiso, un representante del CEI lo puede contactar para información sobre su experiencia con esta investigación. Si usted no quiere, no tiene que contestar ninguna pregunta que le haga el representante.

Publicación de los resultados de la investigación: Los resultados de esta investigación se pueden publicar en revistas científicas sin identificarlo a usted de ninguna manera.

SUS PREGUNTAS: Los Drs. Ivonne Maria Olivarez Corichi, Eleazar Lara Padilla y Liliana Gutiérrez López están disponibles para contestarle sus preguntas sobre esta investigación. Su número de teléfono se encuentra escrito arriba de esta forma de consentimiento. El presidente del CEI está disponible para contestarle cualesquier pregunta sobre sus derechos como participante en la investigación o contestarle sus preguntas sobre una herida u otra complicación que resulte de su participación en la investigación. Usted puede telefonarle al presidente del CEI durante horas regulares de oficina, en el mismo teléfono que se menciona anteriormente

Su firma abajo certifica lo siguiente:

- Usted ha leído (o le han leído) la información en esta forma de consentimiento
- Usted ha recibido respuestas a todas sus preguntas.
- Usted ha decidido libremente participar en esta investigación.
- Usted entiende que no está renunciando ningunos de sus derechos legales.

Nombre de participante (en letra de molde)

Firma de participante y fecha

Firma de los Doctores responsables de la investigación. Nombre y fecha

Nombre de testigo en letra de molde

Firma de testigo y fecha

Más Información Sobre Esta Investigación

¿Qué les pasará a las muestras de sangre para esta investigación?

La Dra. Ivonne Maria Olivares Corichi, Dr. Eleazar Lara Padilla y la Dra Liliana Gutierrez López compararán información sobre la salud de participantes con los resultados de exámenes de investigación usando su plasma.

¿Por cuánto tiempo se guarda el plasma ?

Los investigadores guardarán su muestra en un laboratorio de investigación en esta institución hasta que se acabe todo o hasta que ellos decidan desechar la muestra. Si hay un corte de luz en el laboratorio, y su muestra congelada se derrite, ésta se podría echar a perder y ser inservible para investigación futura. Si eso ocurre, la muestra se desecharía. Si su muestra se queda guardada más allá de su vida media, se usará como se ha descrito en este documento.

¿Pueden otros investigadores usar sus muestras?

Con su permiso, los investigadores pueden dar alguno de sus muestras a otros científicos médicos que están estudiando obesidad o hasta otro problema médico. Las muestras que se dé a otros científicos no tendrá una etiqueta con su nombre u otra información que lo podría identificar de algún modo.

¿Quién decide cuáles científicos pueden recibir sus muestras?

Los investigadores piden su permiso para usar su muestra como ellos quieran. La muestra se usará solamente para investigación médica y no se venderá. La Dra Ivonne Maria Olivares Corichi, Eleazar Lara Padilla y Liliana Gutiérrez López decidirán cuáles investigadores en esta institución y en otros centros médicos pueden recibir sus muestras. Sus muestras se pueden usar en otra investigación solamente si la otra investigación ha sido aprobada por el Comité de Ética Institucional.

¿Podría usarse su muestra para otros propósitos?

Nadie podrá usar su muestra para otros propósitos más que investigación sin su permiso y la aprobación del CEI en esta institución.

¿Le reportarán a usted los resultados de exámenes de investigación?

La Dra. Ivonne Maria Olivares Corichi o Eleazar Lara Padilla y Liliana Gutierrez Lopez usarán sus muestras solamente para investigación. Los resultados de las muestras de sangre le serán comunicados antes y después de la investigación con el fin de observar la mejora de su estado de salud mencionada anteriormente.

¿Cuáles son algunos de los riesgos que podrían resultar de su participación en esta clase de investigación?

Estrés: Usted podría sufrir estrés por participar en esta clase de investigación. El saber que investigadores tienen información personal de usted lo podría inquietar. Esta clase de información no será reportada a usted u otros miembros de su familia sin su permiso.

¿Cómo deja usted su participación en esta investigación? Si usted prefiere discontinuar su participación en esta investigación, le puede pedir a los investigadores que destruyan cualquier documento de su participación en esta investigación y también que destruyan cualquier muestra que tenga su nombre. No se le pedirá ninguna información adicional o muestras. Se quitará su identidad de todos los documentos de investigación. Sin embargo, los datos que resulten de la investigación no se destruirán. Las muestras que se han mandado a otros científicos no se pueden identificar y destruir porque su nombre se quitó antes de enviar las muestras a otros centros médicos.

¿Tiene usted preferencias sobre el uso de su muestra o contacto futuro con usted? Por favor conteste cada pregunta siguiente con “sí” o “no.” Luego firme su nombre.

_____ ¿Pueden los investigadores anotados arriba quedarse con su muestra para investigación futura para aprender sobre la obesidad?

_____ ¿Pueden los investigadores usar su muestra para otra investigación además de obesidad?

_____ ¿Pueden contactarlo en el futuro el Dr. Eleazar Lara Padilla o alguien que el escoja?

_____ ¿Puede hablar con usted un representante del CCI sobre su experiencia con esta investigación?

Firma de participante y fecha

He discutido mi participación en este estudio con mi asesor en esta investigación, y estoy de acuerdo en participar en este estudio.

Firma (participante). Fecha

ANEXO III: HISTORIA CLINICO NUTRICIONAL, HISTORIA CLINICA DE OBESIDAD Y SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES

HISTORIA CLINICO NUTRICIONAL

Investigador: Fecha: ____/____/____
dd mm aa

Iniciales del paciente: ____/____/____

Núm. paciente: ____/____/____

Visita 2 - 3Nombre del paciente: _____
Apellido paterno materno nombre(s)Sexo: 1F 2M ☐

Edad: _____ años

Actividad física: _____

INDICADORES ANTROPOMETRICOS

Peso kgTalla cmC. muñeca cm

PARA SER LLENADA POR EL PERSONAL DE NUTRICION

DIAGNOSTICO NUTRICIONAL

Indice de masa corporal: _____ Anchura de muñeca: _____ cm

Complejión: 1 Pequeña 2 Mediana 3 Grande ☐Peso ideal kgObservaciones: _____

PLAN DE MANEJO NUTRICIO INICIAL

Total de kilocalorías 1,700

Nutrimento	Porcentaje	Kilocalorías	Gramos
Hidratos de carbono	50	850	212.5
Proteínas	20	340	85
Grasas	30	510	56.6

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa

INDICADORES DIETETICOS SEGÚN EL GRUPO DE ALIMENTOS

Investigador: _____

Fecha ____/____/____

Núm paciente ____/____/____

Iniciales del paciente: ____/____/____

dd mm aa

Nombre del paciente: _____ **Visita 2 - 3**

Indique el número que mejor describa la frecuencia semanal con que el paciente consume los siguientes alimentos:

1 = 0 veces**3 = 3 a 5 veces****2 = 1 a 2 veces****4 = 6 a 7 veces**

CARNES		VERDURAS		AZUCARES	
Res		Hojas (lechuga, acelga, espinacas, verdolagas, quelites, chaya, berros)		Miel, azúcar, piloncillo	
Cerdo		Pulpa (chayote, calabacita, zanahorias ejote, elote, champiñones, jitomate)		Mermelada, jalea, ate, cajeta	
Pollo				Frutas en almíbar	
Pescado		TUBERCULOS			
Embutidos		Papa, camote		FRUTAS	
Otros				Cítricos (naranja, mandarina, piña, uva, guayaba, toronja)	
		LEGUMINOSAS		No cítricos (fresa, pera, manzana, papaya, sandia)	
LACTEOS		Frijol, lenteja, garbanzo, haba			
Leche		CEREALES		POSTRES	
Queso				Pasteles, arroz con leche, flan, crepas	
Yogurt		Pan		Gelatina	
		Pastas		Refresco	
		Galletas			
		Arroz			
		Tortillas			
		Alimentos preparados con masa (tamales, tlacoyos, sopes)			

Recolectado por: _____
(Nombre y fecha)Fecha ____/____/____
dd mm mm

Investigador: 	Iniciales del paciente: ____/____/____	Fecha ____/____/____ <small style="display: block; text-align: right;">dd mm aa</small>
Nombre del paciente: _____ Núm paciente ____/____/____ Visita 2 - 3 <small style="display: block; text-align: center;">Apellido paterno , materno , nombre(s)</small>		
<p>Recordatorio de 24 horas Describa de manera detallada los platillos y sus alimentos que consume en cada una de las comidas, incluya también las bebidas. No olvide especificar los alimentos que toma entre comidas como colación, "lunch", tentempié, botana, jugos o refrescos en el espacio COLACIÓN. También es importante que mencione si hace alguna comida extra.</p>		
ALIMENTOS	CANTIDAD	
Desayuno		
Colación		
Comida		
Colación		
Cena		
Colación		
Observaciones _____ _____ _____ _____		
Recolectado por: _____ <small style="display: block; text-align: center;">(Nombre y firma)</small>		Fecha ____/____/____ <small style="display: block; text-align: right;">dd mm aa</small>

DETERMINACIÓN DE EXAMENES DE LABORATORIO
Detección de diabetes mediante determinaciones de glucosa

Investigador: Fecha: ____/____/____
dd mm aa

Iniciales del paciente: ____/____/____

Núm. Paciente: ____/____/____

Visita 2 - 3Nombre del paciente: _____
Apellido paterno materno nombre(s)Sexo: 1 Femenino 2 Masculino ☐

En caso de que el resultado de la primera glucemia sea igual o mayor de 125 mg/100 dL se efectuará una segunda determinación

Estudio	Cifras normales	Unidades	Resultado	Normal	Anormal
					CNS CS
Glucosa					
Primera determinación	<125	mg/dL		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa**Visita núm. 3**Fecha: ____/____/____
dd mm aa

Estudio	Cifras normales	Unidades	Resultado	Normal	Anormal
					CNS CS
Glucosa					
Segunda determinación	<125	mg/dL		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa

DETERMINACIÓN DE EXAMENES DE LABORATORIO**Prueba de embarazo**Investigador: Fecha: ____/____/____
dd mm aa**Visita 2 - 3**

Iniciales del paciente: ____/____/____

Núm. Paciente: ____/____/____

Nombre del paciente: _____
Apellido paterno materno nombre(s)

	Negativa	Positiva
Gonadotrofina beta coriónica cualitativa en orina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa**RESULTADOS DEL ELECTROCARDIOGRAMA**

Estudio	Normal	Anormal		Observaciones
		CNS	CS	
Electrocardiograma 1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Electrocardiograma 2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

1. Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa2. Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____
(Nombre y firma) dd mm aa

Investigador: <input style="width: 150px;" type="text"/>	Fecha: <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> <small>dd mm aa</small>				
HISTORIA CLÍNICA OBESIDAD					
Iniciales del paciente: <input style="width: 60px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/>	Núm. Paciente: <input style="width: 60px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/>				
Visita 4					
Nombre del paciente <input style="width: 600px;" type="text"/>					
<small>Apellido paterno materno nombre(s)</small>					
Fecha nac: <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> <small>dd mm aa</small>	Edad: <input style="width: 40px;" type="text"/> / <input style="width: 40px;" type="text"/> <small>aa mm</small>				
Sexo: 1 M 2 F <input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>					
Estado civil: 1 soltero 2 casado 3 divorciado 4 viudo 5 unión libre <input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>					
Profesión/oficio: <input style="width: 150px;" type="text"/>	Escolaridad <input style="width: 100px;" type="text"/> Años <input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>				
DIRECCIÓN: <input style="width: 600px;" type="text"/>					
<small>Calle núm. Colonia</small>					
<small>Delegación Ciudad Estado C.P.</small>					
Teléfono casa: <input style="width: 100px;" type="text"/> Trabajo: <input style="width: 100px;" type="text"/> Familiar: <input style="width: 100px;" type="text"/>					
Recados: <input style="width: 100px;" type="text"/> Celular: <input style="width: 100px;" type="text"/> Correo electrónico: <input style="width: 150px;" type="text"/>					
Instrucciones. Marque con una cruz la o las opciones que correspondan					
I. ANTECEDENTES FAMILIARES (F) O PERSONALES (P) DE COMORBILIDAD POR OBESIDAD:					
1.	Hipertensión arterial	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
2.	Infarto cardiaco	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
3.	Arteriosclerosis	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
4.	Accidente cerebral vascular	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
5.	Várices	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
6.	Diabetes tipo 2	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
7.	Enfermedad tiroidea	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
8.	Obesidad	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
9.	Cáncer	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
10.	Cálculo biliar	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
11.	Reflujo gastroesofágico	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
12.	Diabetes gestacional	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
13.	Dislipidemia	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P
14.	Infertilidad	<input type="checkbox"/> 1 Sí	<input type="checkbox"/> 2 No	<input type="checkbox"/> 3 F	<input type="checkbox"/> 4 P

II. ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS:

1.	Tabaquismo	1 Sí	2 No <input type="checkbox"/>
2.	Alcoholismo	1 Sí	2 No <input type="checkbox"/>
3.	Toma refresco	1 Sí	2 No <input type="checkbox"/>
4.	Sedentarismo	1 Sí	2 No <input type="checkbox"/>

III. PADECIMIENTO ACTUAL

Peso al nacer: _____ kg Peso a los 18 años: _____ kg Peso habitual (últimos 5 años): _____ kg

Motivación actual para perder peso:

1. Salud 2. Estética 3. Ambos

Indique el o los números que respondan a las siguientes preguntas:

1. ¿A que edad se estableció la obesidad?

1 Infancia	3 Adulto
2 Adolescencia	4 Gestacional

2. Eventos que se correlacionaron con el establecimiento de la obesidad

1 Menarca	4 Embarazo	7 Cirugía	9 Fármacos
2 Pubertad	5 Menopausia	8 Traumatismo	10 Ninguno
3 Matrimonio	6 Enfs. incapacitantes	11 Otros (especificar):	

3. Eventos psicológicos que se correlacionaron con la aparición de la obesidad:

1 Divorcio	4 Depresión	7 Situaciones conflictivas
2 Duelo	5 Exámenes escolares	8 Abuso (sexual, físico, psicológico)
3 Estrés	6 Ansiedad	9 Otros (especifique):

4. Su obesidad ha sido causa de:

La obesidad ha sido causa de insatisfacción sexual 1 Sí 2 No 3 VSNA

Ha tenido que mudarse de domicilio por la obesidad 1 Sí 2 No

La obesidad ha afectado la dinámica familiar 1 Sí 2 No

5. ¿Practica algún deporte?

1 Sí 2 No

¿Cuál? (especificar)

Horas a la semana

6. Tipo de lactancia		1 materna 2 otra			
Edad de ablactación: _____ meses					
7. Antecedentes heredofamiliares de obesidad: condición de la familia					
Padre obeso	1 Sí 2 No				
Madre obesa	1 Sí 2 No				
Hermanos obesos	1 Sí 2 No				
			Total de hermanos		de _____ Hermanos obesos
8. Tratamiento previos de obesidad				1 Sí 2 No	
Fecha del último tratamiento _____ / _____ / _____					
Motivo para el último tratamiento: 1 Estética 2 Salud 3 Ambos					
9. Señalar el tipo de tratamiento:					
1 Dietético		3 Trabajo de grupo			
2 Actividad física		4 Farmacológico			
5 Otros (especifique) _____					
10. Si tomó medicamento, tipo de fármaco tomado					
Duración _____ meses Dosis _____		1 Alópata 2 Homeópata			
		Nombre _____			
11. Resultados del último tratamiento					
Peso máximo perdido: _____ kg		En cuánto tiempo: _____ meses			
Peso recuperado: _____ kg		En cuánto tiempo: _____ meses			
12 Causas de recuperación de peso					
1 Matrimonio		4 Desajuste económico			
2 Evento psicológico		5 Muerte de persona cercana			
3 Divorcio		6 Cambio en el estilo de vida (especifique) _____			
7 Suspender tratamiento farmacológico		8 Otros (especifique) _____			

IV. INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS**Respiratorio** (disnea, expectoración, tos):

Cardiovascular (acúfenos, disnea, dolor precordial, edema, fosfenos, palpitaciones):

Digestivo (agruras, constipación, diarrea, dolor tipo cólico, náusea, resequead de boca, sensación de sed, sensación de gusto metálico, vómito):En una escala de **1** al **10** califique su hambre antes de: Desayuno Comida Cena En una escala de **1** al **10** califique su saciedad después de: Desayuno Comida Cena

Urinario (disuria, hematuria, nicturia, oliguria, poliuria, retención urinaria):

Endocrino (bochornos, polifagia, hipotiroidismo, hipertiroidismo):

Sistema nervioso (ataxia, control de esfínteres, funciones cerebrales superiores, marcha, motilidad, nerviosismo, pares craneales, sensibilidad, sistema cerebeloestibular, somnolencia, temblores):

Organos de los sentidos (gusto, mareo, oído, olfato, tacto, vértigo, vista):

Hematopoyético (epistaxis, equímosis, gingivorragia, petequias):

Psiquiátrico (angustia, ansiedad, depresión, insomnio, trastornos de la personalidad):

Dermatológico (estado de piel y anexos, acrocordones, *acantosis nigricans*, estrías rojizas, hiperqueratosis, xerosis, lipodistrofia glúteofemoral):

Inmunológico (adenomegalias, alergias, infecciones frecuentes o crónicas):

Sistema reproductor (menarca, ritmo, cantidad, dismenorrea, sangrado transvaginal, mastalgia, tumor mamario, gesta, para, abortos, cesáreas, método anticonceptivo, libido, disfunción eréctil):
FUR:

Sistema musculoesquelético (dolor de espalda, pies, rodillas, articulaciones en general)

Síntomas generales (astenia, cefalea, diaforesis, fiebre)

V. EXPLORACIÓN FÍSICA**Signos vitales:**

FR: _____ /min

FC: _____ /min

Temperatura _____ °C

TA: _____ mm Hg

Antropometría:

Peso: _____ kg

Talla _____ cm

IMC: _____ kg/m²

Cintura: _____ cm

Cadera: _____ cm

ICC: _____

% Grasa _____

Grasa: _____ kg

Masa magra: _____ kg

Agua total: _____ kg

Impedancia: _____

Tipo de distribución del tejido adiposo

1 Androide**2** Ginecoide

Mujeres entre 0.71 y 0.84

Indices mayores = Androide

Hombres entre 0.78 y 0.93

Indices menores = Ginecoide

Inspección general

Cabeza y cuello

Tórax

Abdomen

Extremidades	
Piel y anexos	
Genitales: No se exploran	
Diagnósticos	
Enfermedad principal: _____	
Enfermedad concomitante: _____	
TRATAMIENTO	
Plan de ejercicios:	
Tipo: _____	Frecuencia: _____ Intensidad: _____ Tiempo: _____
Plan Nutricional	
Dieta indicada: 1700 Kcal/día	
Tratamiento farmacológico	
Vía de administración: ORAL	Posología: UNA CÁPSULA ANTES DEL DESAYUNO
Duración: 3 meses	Número de cápsulas entregadas _____
Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____	
Nombre y firma	

CRITERIOS DE SELECCIÓN Visita de Inclusión		
Investigador: 	Fecha: ____/____/____ <small>dd mm aa</small>	
Núm paciente: ____/____/____	Iniciales del paciente: ____/____/____	
Nombre del Paciente _____		Visita 4
Apellido paterno materno nombre(s)		
Asegúrese que todas las casillas han sido marcadas con un Sí antes que el paciente deje la clínica.		
1. Ha firmado el consentimiento informado para ser incluido en este estudio	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
2. El paciente es mayor de 18 años de edad	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
3. El paciente es menor de 60 años de edad	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
4. El paciente tiene IMC ≥ 30	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
5. Si es mujer, se descartó embarazo o planes de embarazo en los próximos 6 meses	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
6. Se descartó hipotiroidismo	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
7. Se descartó diabetes	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
8. Se descartaron cardiopatías	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
9. Se descartaron hipertensión arterial	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
10. Se descartaron nefropatías	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
11. Se descartaron neoplasias	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
12. Se descartaron enfermedades pulmonares	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
13. Se descartaron trastornos del apetito (anorexia y bulimia)	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
14. Se descartaron hepatopatías	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
15. Se descartó úlcera péptica	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
16. Se descartaron reacciones de hipersensibilidad a los fármacos en estudio	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
17. Se descartó alcoholismo y otras toxicomanías	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
18. Se descartaron trastornos psiquiátricos	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
19. Se descartó tratamiento previo para la obesidad al menos un mes antes de incorporarse al estudio	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
20. Se descartó la participación en otros estudios farmacológicos al menos un mes antes de incorporarse al estudio	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
21. Se instruyó al paciente en la forma de tomar el medicamento	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
22. Se proporcionó el medicamento en estudio para el primer mes	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
23. Se le entregó su carnet de visitas	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
24. Se instruyó al paciente que limite sus medicamentos a antimicrobianos, analgésicos, antipiréticos, antiácidos, complementos vitamínicos y antiinflamatorios no esteroides	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
25. Se instruyó al paciente que NO tome: IMAO, digitálicos, bloqueadores beta, antigripales, antihistamínicos, antidepresivos, anticolinérgicos u otra formulación que sirva como tratamiento de la obesidad	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
26. Se le dieron al paciente sus indicaciones nutricionales y de actividad física	<input type="checkbox"/> 1Sí	<input type="checkbox"/> 2No
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div>Investigador: _____ <small>(nombre y firma)</small></div> <div>Fecha: ____/____/____ <small>dd mm aa</small></div> </div>		

HOJA DE EVOLUCIÓNInvestigador. Núm. Paciente: ____/____/____ Iniciales del paciente: ____/____/____Nombre del Paciente _____ Fecha ____/____/____ **Visita 5**
Apellido paterno materno nombre(s) dd mm aa**INTERROGATORIO**

Anote cualquier manifestación clínica ocurrida desde la última visita. **Describa su fecha de aparición, desaparición, duración, intensidad, evolución y necesidad de tratamiento e indique la relación con el medicamento de estudio usando la siguiente escala:**

1 = Altamente probable; **2** = Probable; **3** = Posible; **4** = Poco Probable; **5** = no relacionado

I. INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS**Respiratorio** (disnea, expectoración, tos):

Cardiovascular (acúfenos, disnea, dolor precordial, edema, fosfenos, palpitaciones):

Digestivo (agruras, constipación, diarrea, dolor tipo cólico, náusea, resequead de boca, sensación de sed, sensación de gusto metálico, vómito):

En una escala de **1** al **10** califique su hambre antes de: Desayuno Comida Cena

En una escala de **1** al **10** califique su saciedad después de: Desayuno Comida Cena

Urinario (disuria, hematuria, nicturia, oliguria, poliuria, retención urinaria):

Endocrino (bochornos, polifagia):

Sistema nervioso (ataxia, control de esfínteres, funciones cerebrales superiores, marcha, motilidad, nerviosismo, pares craneales, sensibilidad, sistema cerebeloestibular, somnolencia, temblores):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Órganos de los sentidos (gusto, mareo, oído, olfato, tacto, vértigo, vista):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hematopoyético (anemia, epistaxis, equimosis, gingivorragia, petequias):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Psiquiátrico (angustia, ansiedad, depresión, insomnio, trastornos de la personalidad):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatológico (estado de piel y anexos, acrocordones, acantosis nigricans, estrias rojizas, hiperqueratosis, xerosis):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Inmunológico (adenomegalias, alergias, infecciones frecuentes o crónicas):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sistema reproductor (menarca, ritmo, cantidad, dismenorrea, sangrado transvaginal, mastalgia, tumor mamario, gesta, para, abortos, cesáreas, método anticonceptivo, libido, disfunción eréctil):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
FUR:			
Sistema musculoesquelético (dolor de espalda, pies, rodillas, articulaciones en general):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Síntomas generales (astenia, cefalea, diaforesis, fiebre):			<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
II. EXPLORACIÓN FÍSICA			
Signos vitales:			
FR: _____ /min		FC: _____ /min	
Temperatura _____ °C		TA: _____ mm Hg	
Antropometría:			
Peso: _____ kg	Talla _____ cm	IMC: _____ kg/m ²	
Cintura: _____ cm	Cadera: _____ cm	ICC: _____	
% Grasa _____	Grasa: _____ kg		
Masa magra: _____ kg	Agua total: _____ kg	Impedancia: _____	
Tipo de distribución del tejido adiposo		1 Androide 2 Ginecoide	<input type="checkbox"/>
Mujeres entre 0.71 y 0.84	Indices mayores = Androide		
Hombres entre 0.78 y 0.93	Indices menores = Ginecoide		
Apego a las indicaciones			
Dieta que lleva: _____ kcal/día	Días que llevó la dieta: _____		
Tipo de ejercicio: _____	Días a la semana: _____	Minutos/día _____	
Inspección general			

Cabeza y cuello

Tórax

Abdomen

Extremidades

Piel y anexos

Genitales: No se exploran**TRATAMIENTO****Plan nutricional**

--

Plan Psicológico:

--

Plan de actividad física:

--

Número de cápsulas Recibidas: _____

Entregadas: _____

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____

Nombre y firma

dd mm aa

HOJA DE EVOLUCIÓN

Investigador: Fecha / / Iniciales del paciente: / /
dd mm aa

Nombre Núm. paciente / / **Visita 6**
Apellido paterno materno nombre(s)

INTERROGATORIO

Anote cualquier manifestación clínica ocurrida desde la ultima visita. **Describa su fecha de aparición, desaparición, duración, intensidad, evolución y necesidad de tratamiento e indique la relación con el medicamento de estudio usando la siguiente escala:**

1 = Altamente probable; **2** = Probable; **3** = Posible; **4** = Poco Probable; **5** = no relacionado

I. INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS

Respiratorio (disnea, expectoración, tos):

Cardiovascular (acúfenos, disnea, dolor precordial, edema, fosfenos, palpitaciones):

Digestivo (agruras, constipación, diarrea, dolor tipo cólico, náusea, resequead de boca, sensación de sed, sensación de gusto metálico, vómito):

En una escala de **1** al **10** califique su hambre antes de: Desayuno Comida Cena

En una escala de **1** al **10** califique su saciedad después de: Desayuno Comida Cena

Urinario (disuria, hematuria, nicturia, oliguria, poliuria, retención urinaria):

Endocrino (bochornos, polifagia):

Sistema nervioso (ataxia, control de esfínteres, fundones cerebrales superiores, marcha, motilidad, nerviosismo, pares craneales, sensibilidad, sistema cerebelovestibular, somnolencia, temblores):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Órganos de los sentidos (gusto, mareo, oído, olfato, tacto, vértigo, vista):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hematopoyético (anemia, epistaxis, equímosis, gingivorragia, petequias):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Psiquiátrico (angustia, ansiedad, depresión, insomnio, trastornos de la personalidad):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatológico (estado de piel y anexos, acrocordones, acantosis nigricans, estrias rojizas, hiperqueratosis, xerosis):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Inmunológico (adenomegalias, alergias, infecciones frecuentes o crónicas):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sistema reproductor (menarca, ritmo, cantidad, dismenorrea, sangrado transvaginal, mastalgia, tumor mamario, gesta, para, abortos, cesáreas, método anticonceptivo, libido, disfunción eréctil):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
FUR:			
Sistema musculoesquelético (dolor de espalda, pies, rodillas, articulaciones en general):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Síntomas generales (astenia, cefalea, diaforesis, fiebre):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

II.EXPLORACIÓN FÍSICA		
Signos vitales:		
FR: _____ /min	FC: _____ /min	
Temperatura _____ °C	TA: _____ mm Hg	
Antropometría:		
Peso: _____ kg	Talla _____ cm	IMC: _____ kg/m ²
Cintura: _____ cm	Cadera: _____ cm	ICC: _____
% Grasa _____	Grasa: _____ kg	
Masa magra: _____ kg	Agua total: _____ kg	Impedancia: _____
Tipo de distribución del tejido adiposo 1 Androide 2 Ginecoide		<input style="width: 40px; height: 20px;" type="checkbox"/>
Mujeres entre 0.71 y 0.84 Indices mayores = Androide Hombres entre 0.78 y 0.93 Indices menores = Ginecoide		
Apego a las indicaciones		
Dieta que lleva: _____ kcal/día	Días que llevó la dieta: _____	
Tipo de ejercicio: _____	Días a la semana: _____	Minutos/día _____
Inspección general _____ _____ _____ _____		
Cabeza y cuello _____ _____ _____ _____		

Tórax <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
Abdomen <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
Extremidades <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
Piel y anexos <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
Genitales: No se exploran	
TRATAMIENTO	
Plan nutricional	
Plan Psicológico:	
Plan de actividad física:	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> Número de cápsulas Recibidas: _____ Entregadas: _____ </div>	
Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____ <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> Nombre y firma dd mm aa </div>	

HOJA DE EVOLUCIÓN

Investigador: Fecha / / Iniciales del paciente: / /
dd mm aa

Nombre Núm. paciente / / **Visita 7**
Apellido paterno materno nombre(s)

INTERROGATORIO

Anote cualquier manifestación clínica ocurrida desde la última visita. **Describa su fecha de aparición, desaparición, duración, intensidad, evolución y necesidad de tratamiento e indique la relación con el medicamento de estudio usando la siguiente escala:**

1 = Altamente probable; **2** = Probable; **3** = Posible; **4** = Poco Probable; **5** = no relacionado

I. INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS

Respiratorio (disnea, expectoración, tos):

Cardiovascular (acúfenos, disnea, dolor precordial, edema, fosfenos, palpitaciones):

Digestivo (agruras, constipación, diarrea, dolor tipo cólico, náusea, resequead de boca, sensación de sed, sensación de gusto metálico, vómito):

En una escala de **1** al **10** califique su hambre antes de: Desayuno Comida Cena

En una escala de **1** al **10** califique su saciedad después de: Desayuno Comida Cena

Urinario (disuria, hematuria, nicturia, oliguria, poliuria, retención urinaria):

Endocrino (bochornos, polifagia):

Sistema nervioso (ataxia, control de esfínteres, fundones cerebrales superiores, marcha, motilidad, nerviosismo, pares craneales, sensibilidad, sistema cerebelovestibular, somnolencia, temblores):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Órganos de los sentidos (gusto, mareo, oído, olfato, tacto, vértigo, vista):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hematopoyético (anemia, epistaxis, equímosis, gingivorragia, petequias):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Psiquiátrico (angustia, ansiedad, depresión, insomnio, trastornos de la personalidad):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatológico (estado de piel y anexos, acrocordones, acantosis nigricans, estrias rojizas, hiperqueratosis, xerosis):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Inmunológico (adenomegalias, alergias, infecciones frecuentes o crónicas):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sistema reproductor (menarca, ritmo, cantidad, dismenorrea, sangrado transvaginal, mastalgia, tumor mamario, gesta, para, abortos, cesáreas, método anticonceptivo, libido, disfunción eréctil):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
FUR:			
Sistema musculoesquelético (dolor de espalda, pies, rodillas, articulaciones en general):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Síntomas generales (astenia, cefalea, diaforesis, fiebre):		<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>
II.EXPLORACIÓN FÍSICA		
Signos vitales:		
FR: _____ /min	FC: _____ /min	
Temperatura _____ °C	TA: _____ mm Hg	
Antropometría:		
Peso: _____ kg	Talla _____ cm	IMC: _____ kg/m ²
Cintura: _____ cm	Cadera: _____ cm	ICC: _____
% Grasa _____	Grasa: _____ kg	
Masa magra: _____ kg	Agua total: _____ kg	Impedancia: _____
Tipo de distribución del tejido adiposo 1 Androide 2 Ginecoide		<div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 25px; margin: 0 auto;"></div>
Mujeres entre 0.71 y 0.84 Índices mayores = Androide Hombres entre 0.78 y 0.93 Índices menores = Ginecoide		
Apego a las indicaciones		
Dieta que lleva: _____ kcal/día		Días que llevó la dieta: _____
Tipo de ejercicio: _____		Días a la semana: _____ Minutos/día _____
Inspección general (rubor, palidez de tegumentos) <div style="border-bottom: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"></div> <div style="border-bottom: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"></div> <div style="border-bottom: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"></div> <div style="border-bottom: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"></div>		

Cabeza y cuello

Tórax

Abdomen

Extremidades

Piel y anexos

Genitales: No se exploran**TRATAMIENTO****Plan nutricional**

--

Plan Psicológico:

--

Plan de actividad física:

--

Número de cápsulas Recibidas: _____

Entregadas: _____

Recolectado por: _____ Fecha: ____/____/____

Nombre y firma

dd mm aa

TERMINACIÓN DEL ESTUDIO

Investigador: Fecha / / Iniciales del paciente: / /
dd mm aa

Nombre Núm. paciente / / Visita
Apellido paterno materno nombre(s)

Investigador: Raúl Morín Zaragoza

Fecha / /
dd mm aa

Instrucciones: Marque el cuadro de acuerdo a la situación que se presente.

Confirmando que:

1. El paciente terminó el estudio 1 Si 2 No ☐

El paciente fue retirado del estudio debido a:

2. Un evento adverso 1 Sí 2 No ☐

3. Falta de eficacia 1 Sí 2 No ☐

4. El paciente retiró su consentimiento: ☐

Causa: 1 Si 2 No ☐

5. Falta de seguimiento 1 Sí 2 No ☐

6. Otra causa ☐

Especifique: 1 Si 2 No ☐

He revisado toda la información contenida en esta Ficha de Reporte de Datos y confirmo que provee un testimonio verdadero de la participación de este paciente en este estudio

NOMBRE EN LETRA DE IMPRENTA:

FIRMA:

Fecha: / /
dd mm aa

REPORTE DE EVENTO ADVERSO SEVERO (EAS 1)

Investigador: Fecha / / Iniciales del paciente: / /
dd mm aa

Nombre Núm. paciente / /
Apellido paterno materno nombre(s)

El Investigador responsable notificará al Comité de Ética y a Productos Medix (vía CRA) en menos de 24 horas sobre cualquier evento adverso severo o evento adverso severo sospechado.

Reporte	1 Inicial	2 Seguimiento	<input type="checkbox"/>
---------	------------------	----------------------	--------------------------

Fecha de nacimiento: / / Talla: cm
dd/ mm/ aa

Edad: / Peso: kg
años/meses

EVENTO ADVERSO SEVERO:

Describa el evento (signos, síntomas, tiempo transcurrido, inicio, exámenes relevantes, datos de laboratorio, tratamiento requerido, efectos posteriores). Describa cronológicamente la situación, incluyendo todas las alteraciones que dieron lugar al evento severo.

ANTECEDENTES MEDICOS RELEVANTES

(diagnóstico previo, cirugías, alergias, etc.)

Inicio del evento:	Fin del evento:	Duración:	¿Continúa al momento del reporte?:
/ /	/ /	horas	
dd/mm/aa	dd /mm /aa	Si <24 horas	1 Sí 2 No

RELACIÓN DEL EVENTO CON EL MEDICAMENTO DE ESTUDIO:

1 Altamente probable	3 Posible	5 No relacionado
2 Probable	4 Poco probable	

MEDICAMENTOS COADMINISTRADOS AL MOMENTO DEL EVENTO:

(Excluya aquellos medicamentos utilizados para tratar el evento)

Medicamento:	Dosis total:	Vía:	Tomado desde/hasta (cont. = continúa):	Asociado con el evento	
				1 Sí	2 No
				1 Sí	2 No
				1 Sí	2 No
				1 Sí	2 No
				1 Sí	2 No

[illegible]

ANEXO IV: MANEJO NUTRICIONAL DE LAS PACIENTES Ejemplo de dieta

NOMBRE:		1800 KCAL	1800 KCAL	
TOMAR MÍNIMO 1.5 LÍ DE AGUA SIMPLE AL DÍA				
DESAYUNO	LICUADO DE PLATANO		DESAYUNO	1800 KCAL
	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA	1 EQ. DE LECHE	LICUADO DE FRESAS	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA
	1/2 PZA DE PLATANO	1 EQ. DE FRUTA	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA	1 MANZANA
	10 ALMENDRAS	1 EQ. DE GRASA	QUESO ASADO CON NOPALES	SANDWICH DE POLLO
	MOLLETES		50 GR. DE QUESO PANELA	50 GR. DE POLLO DESEBRADO
	50 GR. DE QUESO PANELA	1/2 EQ. DE CARNE	1 PZA DE NOPAL	1/2 TAZA DE JITOMATE Y UNA TAZA DE LECHUGA
	1/2 JITOMATE SALADET Y CEBOLLA	1 EQ. DE VERDURA	1/2 DE AGUACATE	1/4 PZA DE AGUACATE
	1/4 PZA DE AGUACATE	1 EQ. DE GRASA	1/2 PZA DE BISQUET	1 REBANADA DE PAN INTEGRAL LIGHT
	1 PAN BOLILLO INTEGRAL	1 EQ. DE CEREAL		1 CDA DE MAYONESA LIGHT
ALMUERZO	20 PZAS DE UVAS	1 EQ. DE FRUTA	ALMUERZO	1800 KCAL
	1 GALLETA DE AVENA	1 EQ. DE CEREAL	1 NARANJA	1/2 PZA MANGO
			5 PZAS DE GALLETAS MARIAS	1 GALLETA DE AVENA
			COMIDA	1800 KCAL
	1 TAZA DE ARROZ COCIDO	2 EQ. DE CEREAL C/G	1 TAZA DE SOPA DE PASTA	1 TAZA DE SOPA DE PAPA (1 PAPA)
	FILETE DE PESCADO CON ENSALADA		FAJITAS DE POLLO CON ENSALADA	PICADILLO
	100 GR DE FILETE DE PESCADO	1 EQ. DE CARNE	100 GR DE POLLO EN TROZOS	100 GR DE CARNE DE RES
	3 TAZAS DE LECHUGA	1 EQ. DE VERDURA	3 TAZAS DE LECHUGA	1/2 TAZA DE ZANAHORIAS
	1 PZA DE JITOMATE	1 EQ. DE VERDURA	1/2 TAZA DE ZANAHORIAS	1/2 TAZA DE SALSA DE JITOMATE
CENA	1 CDA DE ACEITE	1 EQ. DE VERDURA	1 CDA DE ACEITE VEGETAL	1 CDA DE ACEITE
	2 PZA S DE TORTILLAS	2 EQ. DE GRASAS	2 PZAS DE TORTILLAS	2 PIEZAS DE TORTILLAS
	1/4 TAZA DE FRUJLES	1 EQ. DE CEREAL	1/2 TAZA DE FRUJLES	1/3 TAZA DE FRUJLES
	1 REB DE PIÑA	1 EQ. DE LEGUMINOSAS	1 REB DE SANDIA	1 REBANADA DE MELON
	AGUA NATURAL	1 EQ. DE FRUTA	AGUA NATURAL	AGUA NATURAL
			POR LA TARDE	1800 KCAL
	1 TAZA DE PEPINOS PICADOS	1 EQ. DE VERDURA	1 TAZA DE JICAMA PICADA	1 TAZA DE ZANAHORIA RALLADA
			CENA	1800 KCAL
	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA	1 EQ. DE LECHE	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA	1 TAZA DE LECHE DESCREMADA
POR LA TARDE	QUESO COTTAGE CON ZANAHORIA		ENSALADA DE BROCOLI	ENSALADA DE ATUN
	50 GR DE QUESO COTTGE	1/2 EQ. DE CARNE	50 GR. DE QUESO PANELA	40 GR DE ATUN EN AGUA
	1/2 TAZA DE ZANAHORIA	1 EQ. VERDURA	1/2 TAZA DE BROCOLI	1/2 TAZA DE ZANAHORIA COCIDA
	1 PZA DE PAN TOSTADO INTEGRAL	1 EQ. CEREAL	1 PZA DE PAN INTEGRAL LIGHT	1 PZA DE PAN TOSTADO INTEGRAL
			DRA. LILIANA GUTIÉRREZ LÓPEZ L.N. TALÍA LÓPEZ HINOJOSA	

ANEXO V: CUADERNO DE EQUIVALENTES

Esto se le entrego a los pacientes en forma de cuadernillo y se complementaba con la dieta

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL



**PROYECTO DE OBESIDAD 2009
GRUPO DE ALIMENTOS Y EQUIVALENTES
NUTRICIÓN**



**DRA. LILIANA GUTIERREZ LOPEZ
L.N. TALÍA LÓPEZ HINOJOSA**

RECOMENDACIONES GENERALES PARA MEJORAR SU ALIMENTACIÓN

- ◆ Disminuya el consumo de azúcares: refrescos, jugos industrializados, azúcar, aguas azucaradas, postres, pastelillos, golosinas, harinas refinadas, pan dulce.
- ◆ Evite los alimentos fritos, capeados, empanizados, gratinados con queso y moles.
- ◆ Prefiera lácteos descremados así como carnes magras, sin pellejo y grasa visible.
- ◆ Consumir libremente ensalada de verdura fresca, utilice aderezos de yogurt, limón, vinagre, pimienta, chile piquin, y una pizca de sal.
- ◆ Realice 3 comidas más 2 colaciones: barras de cereal, galletas integrales, yogurt, queso panela, pepinos, betabel, y/o ensaladas.
- ◆ Comer y masticar despacio, con bocados pequeños, servirse una sola vez y en platos pequeños.
- ◆ En la cena evite los alimentos bajos en fibra, altos en grasa, así como los azúcares. Prefiera leche, queso, carnes magras, ensaladas y cereales altos en fibra.
- ◆ Consuma frutas y verduras en piezas o picadas.
- ◆ Tome 2 Lt de agua simple al día.
- ◆ Establezca horarios de comidas y no se salte ninguna.

LECHE**LÁCTEOS DESCREMADOS (Prefiéralos)****Aprox. 90 Kcal. Por ración**

1 taza o 240 ml	Leche líquida descremada (F)
1/2 taza o 120 ml	Leche evaporada descremada (P,F)
3 Cdas	Leche en polvo descremada (P,C,F)
2/3 de taza	Yogurt light
1 taza o 240 ml	Jocoque natural descremado

LÁCTEOS SEMIDESCREMADOS (Prefiéralos)**Aprox. 120 Kcal.**

1 taza o 240 ml	Leche líquida semidescremada (F)
1 taza o 240 ml	Yogurt semidescremado

**LÁCTEOS ENTEROS (Modere su consumo)****Aprox. 150 Kcal. por ración**

1 taza o 240 ml	Leche fresca entera (F)
1/4 taza o 60 ml	Leche evaporada entera (P,F)
1 1/2 cdas	Leche en polvo entera (P,C,F)
1 vaso o 150g	Yogurt natural de leche entera (P)

Los alimentos marcados con los siguientes símbolos representan un alto contenido de:

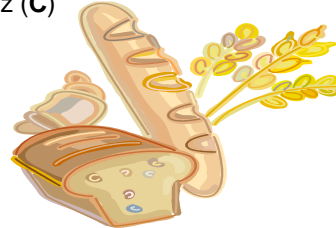
P = potasio**C** = calcio***** = colesterol**F** = fósforo

◆ = sodio

☺ = fibra

CEREALES 80 Kcal. POR RACIÓN**PAN Y TORTILLA**

1/3 pieza	Bolillo con migajón ❖
1/2 pieza	Bolillo sin migajón ❖
1/2 pieza	Bollo para hamburguesa
1/2 pieza	Medias noches
1/3 pieza	Pan árabe
1 rebanada	Pan blanco, integral ❖ (P,C,F) ☺
1/2 pieza	Pan salado (cuernitos integrales) ❖
1 pieza	Tortilla de maíz (C)
1/6 pieza	Baguette
1/3 pieza	Bagel
1/3 pieza	Muffin
2 1/2 cucharaditas	Pan molido

**CEREALES**

1/3 taza	Amaranto (C)
1/2 taza o 5 cucharadas	Arroz cocido (P)
1 1/2 tazas	Arroz inflado ❖ (P, F)
1/4 taza	Avena en hojuelas (P)
1/3 taza	Cereal All- Bran, ❖ (P,C)☺, Fibra uno o Fibra Max ☺
3 cucharadas	Germen de trigo (P)
2 cucharadas	Harina
2/3 taza	Hojuelas de arroz (special K)
2/3 taza	Hojuelas de trigo integral ❖(P) ☺, Bran Flakes (F)
1 cucharada	Masa de Nixtamal (C)
1/2 taza o 120 g	Maíz en grano (esquites o pozole) (P)
1 pieza mediana	Maíz -elote (P)
3 tazas	Maíz palomero inflado sin aceite (P)
1/2 taza	Salvado de trigo (P,C)
1/2 taza o 5 cucharadas	Sopa de pasta cocida

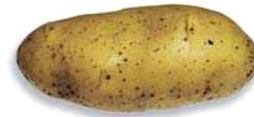


GALLETAS

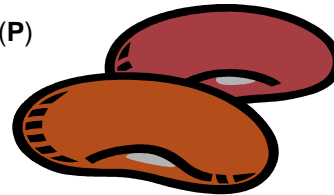
6 piezas	Galletas animalitos
4 piezas	Galletas Kraker Bran ☺
4 piezas	Galletas habaneras ☺
5 piezas	Galletas Marías
2 piezas	Palitos salados sin grasa ❖
20 piezas	Galletas para crema
4 piezas	Galletas Saladas ❖
1 pieza	Barra de multigrano (linaza, nuez, amaranto)
5 piezas	Melba toast
4 piezas	Trigo integral ☺
1 pieza	Galleta de avena

**TUBÉRCULOS**

1/3 taza picado o 60g	Camote (F)
1/2 taza o 1 pza mediana	Papa (P, F)
1/2 taza o 1 pza mediana	Papa en puré sin grasa
1/2 taza o 1 pza mediana	Plátano macho (sin grasa)

**LEGUMINOSAS (F) ☺**

1/3 taza (cocidas)	Alubia (P), alverjón, frijol (P,C), garbanzo, haba (P), lenteja, soya (P,C)
2/3 taza	Chicharo
1 taza	Soya texturizada (hidratada (P)

**Recomendaciones:**

Los cereales integrales contienen, en promedio 2 g de fibra por ración. Los alimentos con (☺) son ricos en fibra 3 o más gramos de fibra por ración. Si utiliza grasa para cocinar algún alimento, tiene que contar la grasa dentro de sus raciones permitidas.

VERDURAS Más de 30 Kcal. Por ración

Como **UNA** ración de verduras usted puede elegir:

1/2 taza de verduras cocidas

1 taza de verduras crudas

1/2 taza de jugo de verduras natural

Alcachofa (1/2 taza)

Betabel (3/4 taza) (F)

Brócoli (F) ☺

Calabaza de castilla madura

Cebolla

Col de bruselas

Chile poblano

Frijol germinado

Haba verde (1/4 taza)

Huazontle

Jícama

Jugo de jitomate

Pepinillos (1/2 taza)

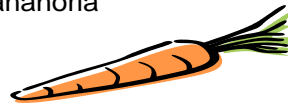
Poro

Quelites (P)

Quintoniles

Soya germinada

Zanahoria

**DE CONSUMO LIBRE Aprox. 20 Kcal. por ración**

Las siguientes verduras contienen cantidades menores de proteínas, lípidos, hidratos de carbono y calorías.

Acelga ❖ (P,F) ☺

Alfalfa germinada

Apio ❖ ☺

Berenjena

Berro

Calabaza amarilla

Calabacitas

Cebollitas cambray

Chapiñones

Chayote

Chilacayote

Chile fresco

Cilantro (P)

Col

Coliflor ☺

Colinabo

Ejote

Endibia (P) ☺

Espárragos (F)

Espinaca ❖ (F) ☺

Flor de calabaza, maguey, yuca

Guaje verde

Hojas de chaya (C)

Hoja santa (C)

Hongos

Huitlacoche

Jitomate

Lechuga (F) ☺

Nabo

Nopales ☺

Pápalo quelite (C)

Pepino

Perejil (P)

Pimiento

Rabanitos

Romeritos

Salsa de chile ☺

Setas

Tomate verde

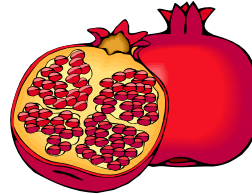
Verdolagas (P)

Xoconostle

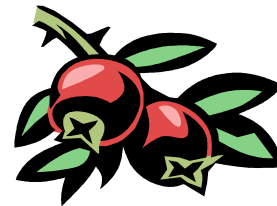


RICAS EN FIBRA Y BAJAS EN AZÚCARES ☺

2 piezas	Carambolo (P)
1 /3 pieza	Chirimoya
1/2 pieza	Chicozapote
1 taza	Frambuesa
1 taza	Fresa (P)
3 piezas	Fruta de la pasión
2 piezas	Granada china
240 g	Guanábana
2 piezas	Guayaba (P)
3 piezas	Lima
3 1/2 piezas	Maracuyá
200 g	Marañón fresco
3/4 taza	Moras
2 tazas	Nance
1/2 pieza	Pera
3/4 taza	Zarzamora

**CONTENIDO MEDIO DE FIBRA Y AZÚCAR**

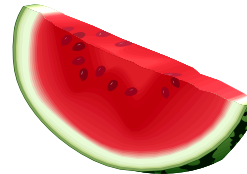
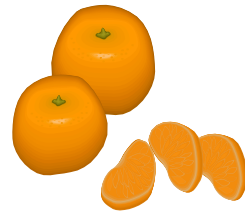
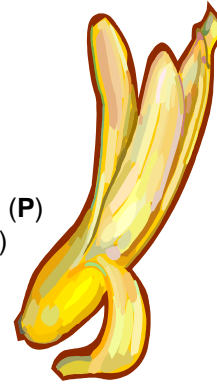
200 g	Arándano fresco
3/4 taza	Blueberries
4 piezas	Chabacano
2 piezas	Durazno (P)
1 taza	Gajos de naranja
3 piezas	Higo fresco
1 1/2 pieza	Kiwi
5 piezas	Limón real
1/3 pieza	Mamey
1 pieza pequeña	Manzana
1 1/2 pieza	Naranja Valenciana
2 piezas	Pera de San Juan
7 cucharadas	Pulpa de mamey



Prefiéralas en piezas, o picadas, no agregar azúcar, chantilli o miel.
Disminuya el consumo de jugos.

BAJAS EN FIBRA Y RICAS EN AZÚCAR

3 tazas	Capulín
1/2 taza	Cóctel de frutas frescas
1 pieza grande	Mandarina
1/2 pieza pequeña	Mango
1 taza	Melón (F)
1 pieza pequeña	Naranja (C)
1 pieza pequeña	Nectarina
7 piezas	Orejones de Chabacano (P)
2 piezas	Orejones de Durazno (P)
4 piezas	Orejones de Manzana
1 pieza	Orejones de Pera
2/3 taza	Papaya (P)
3/4 taza o 1 rebanada	Piña
2 piezas	Pitaya
1/2 pieza	Plátano (P)
3 piezas	Plátano dominico
1 1/2 cucharadas	Puré de Tamarindo
6 piezas	Rambután
1 taza o 1 rebanada	Sandía (F)
50 g	Tamarindo con semilla
2 piezas	Tangerina
2 piezas	Tejocote (C)
1/2 pieza	Toronja
1 taza	Toronja en gajos
2 piezas	Tuna (C)
12 piezas	Uva roja
20 piezas	Uva verde
1/2 pieza	Zapote

**ALTO CONTENIDO DE AZÚCAR.****MODERE SU CONSUMO**

1/3 taza	Jugo de ciruela o uva
1/2 taza	Jugo de manzana, piña, naranja, toronja
3 piezas medianas	Ciruela pasa
2 1/2 piezas	Dátil
1 1/2 pieza	Higos secos
2 cdas	Pasitas

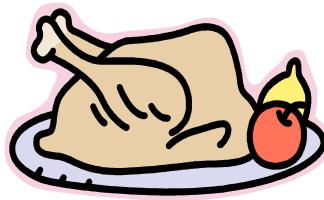


Como **UNA** ración de carne (**ya cocida**) usted puede elegir de entre las siguientes opciones:

CONTENIDO BAJO EN GRASA 165 Kcal POR RACIÓN

CARNES

100 g	Aves (carne sin piel), avestruz, codorniz, faisán, pavo, pollo, gallina.
100 g	Cerdo: cecina ❖
100 g	Conejo: cualquier parte sin grasa
100 g	Res: (P,F): aguayón, aguja, bola, chambarete, cohete, carne seca ❖(C), carne sin grasa, falda, filete.



100 g	Venado: partes magras
-------	-----------------------

HUEVO

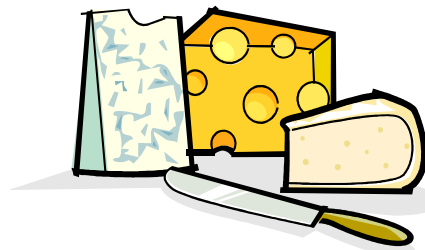
3 piezas	Claros de huevo (grande)
----------	--------------------------

Embutidos

100 g	Pechuga de pavo ❖
100 g	Pechuga de pavo baja en sal

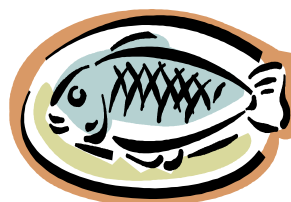
QUESOS

100 g	Amarillo light
100 g	Cottage ❖
100 g	Fresco de vaca
100 g	Manchego light ❖
100 g	Oaxaca light
100 g	Panela
100 g	Requesón ❖,(F)



CONTENIDO BAJO EN GRASA 165 Kcal. POR RACIÓN**PESCADOS Y MARISCOS**

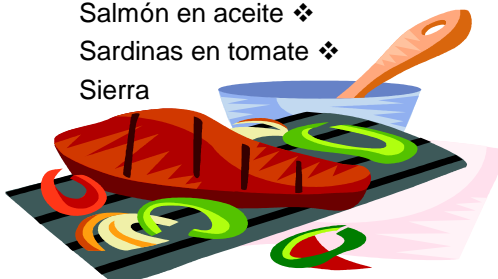
150 g	Almejas medianas
100 g (3/4 lata)	Atún enlatado en agua ❖
25 g	Bacalao ❖
130 g	Calamar fresco
100 g	Camarón crudo *❖
1/4 taza o 60 g	Cangrejo
15 g	Charales (C)
100 g	Huachinango
100 g	Jaiba cocida ❖(P)
130 g	Langosta cruda *
130 g	Langostino *❖ (P)
100 g	Mojarra
200 g	Ostiones ❖
100 g	Cualquier pescado fresco o congelado
150 g	Pulpo (P)
100 g	Róbalo
100 g	Sardinas en aceite ❖ (P,C)
100 g	Trucha (P)
120 g	Cazón

**CONTENIDO MODERADO EN GRASA: 220 Kcal POR RACIÓN****CARNES**

100 g	Cerdo: Lomo, espaldilla
100 g	Cordero: falda, lomo, pierna
100 g	Res (P): (cortes sin grasa), cecina *❖ lengua, maciza, molida especial, suadero.
100 g	Ternera: (cortes sin grasa) espaldilla, lomo, lomo canadiense, pierna.

PESCADOS Y MARISCOS (F)

100 g (3/4 lata)	Atún enlatado en aceite ❖
100 g	Salmón en aceite ❖
100 g	Sardinas en tomate ❖
100 g	Sierra



CONTENIDO ALTO EN GRASA: 300 Kcal. POR RACIÓN

Como **UNA** ración puede elegir ocasionalmente (1 vez al mes)

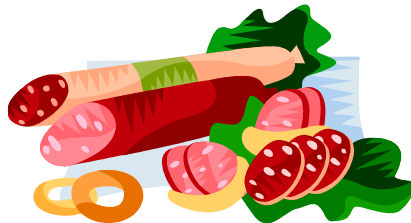
100 g	Aves: ganso, pato
100 g	Cerdo: chuleta, manitas, molida popular, pierna, costilla, patas frescas, carnitas.
60 g	Chicharrón seco
100 g	Cordero: costilla, espaldilla
100 g	Res (P,F): costilla, espaldilla, lomo, menudo, molida comercial, pecho, pescuezo, retazo, carne grasosa con hueso.
100 g	Cortes americanos: New York, ribeye, sirloin, T-bone
100 g	Vísceras (F): molleja, hígado, riñón, sesos*

HUEVO (F)

3 piezas	Huevo entero * (chicos)
3 cucharadas	Huevo deshidratado * (P,C)

EMBUTIDOS ❖ (F)

100 g	Jamón de cerdo y serrano ❖
3 piezas	Salchicha de cerdo o de pavo ❖
9 piezas	Salchichas cocktail ❖
100 g	Chorizo y longaniza
100 g	Queso de puerco ❖, mortadela y salami ❖

**QUESOS**

50 g	Parmesano ❖
80 g	Cotija, chihuahua, holandés, manchego ❖, suizo ❖
100 g	Amarillo (F), camembert ❖ (F), cheddar ❖ (F), chester, gouda ❖, gruyere, mozzarella, oaxaca, provolone, ricota, roquefort.

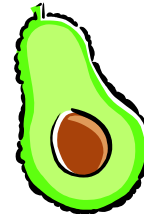
Los alimentos con (*) son altos en colesterol. Evite su consumo
 Los alimentos con (❖) son altos en sodio. Modere su consumo

GRASAS 45 Kcal por ración

Como **UNA** ración de grasa, usted puede escoger entre los siguientes alimentos:

GRASAS MONOINSATURADAS: Prefiéralas

1 cucharadita	Aceite de cacahuete, canola, oliva, pescado.
5 piezas	Aceitunas ❖
1/4 de pieza	Aguacate hass (P,F)
1 cucharada	Ajonjolí (P,F,C)
10 piezas	Almendras (P,C,F)
9 piezas	Cacahuates (P,F)
1 cucharadita	Margarina dietética
1 cucharadita	Mayonesa *
4 piezas	Pistaches (P,C,F)
1 cucharada	Sustituto de crema para café en polvo
	Lautrec (P)❖

**GRASAS POLIINSATURADAS: Modere su consumo**

1 cucharadita	Aceite vegetal: girasol, maíz (F), cártamo, Soya
2 cucharaditas	Aderezo para ensaladas ❖
7 piezas	Avellanas (P, C)
1 cucharada	Crema de cacahuete ❖ (F)
1 cucharadita	Margarina Suave
5 mitades	Nueces de castilla
1 cucharada	Pepitas o piñones
1 cucharada	Semillas de girasol (P)

**GRASAS SATURADAS: Consuma rara vez**

1 cucharadita	Aceite de coco o palma
2 cucharaditas	Coco rallado
2 cucharadas	Crema agria ❖* (C)
1 cucharada	Crema espesa ❖ * (C)
2 cucharaditas	Crema para café (Coffe-mate) ❖
1 cucharadita	Manteca de cerdo o vegetal *
1 cucharadita	Mantequilla ❖
1 cucharadita	Margarina dura
1 cucharada	Paté ❖
1 cucharada	Queso crema❖
1 rebanada delgada	Tocino❖



UTILICE AL GUSTO

Estos alimentos son de bajas calorías y pueden consumirse sin límite:

BEBIDAS

Café	Agua natural	Agua de jamaica
Café descafeinado	Agua mineral	Agua de Tamarindo (P)
Té		Té negro

CONDIMENTOS

Ajo	Pimienta
Ablandadores de carne ❖	Sal ❖
Especias	Salsa de soya ❖
Extractos de vainilla	Salsa inglesa ❖
Hierbas de olor	Salsa preparada en casa
Limón	Pam
Mostaza ❖	Vinagre

**OTROS**

Caldo de frijol sin grasa	Pepinillos ❖
Consomés desgrasados ❖	

CONSUMA CON MODERACIÓN

Estos alimentos pueden consumirse en la cantidad que se indica, ya que de lo contrario agregará calorías adicionales que no están planeadas en su dieta. Estos alimentos sí tienen calorías.

BEBIDAS

Polvos de sabores sin azúcar
Refrescos de dieta

**CONDIMENTOS**

Aderezos para ensaladas bajos en calorías (2 cucharadas) ❖
Catsup (1 cucharada) ❖
Mayonesa sin grasa (1 cucharada) ❖
Mermelada de dieta (2 cucharaditas)
Miel de maple sin azúcar

OTROS

Cocoa en polvo sin azúcar (1 cucharada)
Edulcorantes artificiales (<i>Nutrasweet, Splenda, Canderel</i>)
Gelatina de dieta o sin sabor
Chicle sin azúcar



ANEXO VI: Determinación de proteínas. Método Folin-Fenol (Lowry)

Basado en la formación de un complejo entre el Cu^{2+} y los nitrógenos de los enlaces peptídicos.

Reactivos:

Solucion A:

Na_2CO_3 al 2% tantrato de sodio y potasio al 0.02% en NaOH 0.1N

Solucion B:

CuSO_4 al 0.5% en agua destilada

Solucion C:

Solucion cupro-alcalina preparar con 50 ml de solucion A y 1 ml de solucion B (preparar al momento de usarse)

Solucion D:

Reactivo Folin-Ciocalteu, diluido en proporcion 1:1 en agua destilada

En plasma:

Se hace una dilucion del plasma 1:100 con agua destilada (10 μl de plasma +990 μl de H_2O)

TUBO	Plasma μl	H_2O μl	Sol. C* ml	Sol D** μl
Blanco	0	250	1	100
Problema	100	150	1	100

*Mezclar e incubar 10 min a temperatura ambiente

**Mezclar e incubar 45 min a temperatura ambiente
Leer a 550 nm de longitud de onda

ANEXO VII: Determinación de Malondialdehido (MDA), por el metodo de 1-methyl-2-phenyllindole

Reactivos:

1,1,3,3-Tetrametoxipropano (malondialdehido bis (dimetilacetal)) 10mM en acido sulfurico (H₂SO₄) al 1%

MPI 1-methyl-2-phenyllindole 10mM en acetonitrilo/metanol (3:1)

HCl al 37%

TUBO	PLASMA ul	H2O DESTILADA ul	MPI ul	HCL 37% ul
CALIBRAR	-----	200	650	150
PROBLEMA	100	100	650	150*

- 1.* Se incuba a 45°C 40 minutos
2. Se centrifuga a 3500 rpm 10 minutos
3. Con cuidado (el HCl quema la piel) se toma el sobrenadante y se repite el paso
4. Se lee el sobrenadante a 586nm de longitud de onda.

ANEXO VIII: Determinación de grupos Carbonilo.Reacción con dinitrofenilhidrazina por la técnica de Dalle-Donne

Reactivos:

Solucion de DNPH (2,4 dinitrofenilhidrazina) 10mM en HCl 2.5 M
 HCl 2.5 M
 Solucion de guanidina hidrociorada 6M
 Fosfato de potasio 20mM

TUBO	Plasma μl	DNPH 10M μl	HCl 2.5M* μl
Blanco	50	---	500
Problema	50	500	---

Procedimiento:

- 1.*Incubar 1 hora a obscuras, agitando cada 15 minutos
2. Agregar 1 ml de TCA al 5%
3. Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm
4. Tirar el sobrenadante dejando unicamente la pastilla
5. Agregar 1ml de TCA al 2.5 % y disolver la pastilla
6. Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm
7. Tirar el sobrenadante dejando unicamente la pastilla
8. Agregar 3 ml de la solucion extracto de etanol acetato de etilo y disolver la pastilla
9. Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm
10. retirar el sobrenadante y secar perfectamente la pastilla
11. Disolver la pastilla en 1ml de Guanidina
12. Incubar 10 minutos a 37°C
13. Se lee a 370 nm de longitud de onda y se utiliza guanidina para calibrar.

ANEXO IX: Cuantificación de ditirosinas

Solución de Urea 6M en NaHCO_3 0.1M, pH 9.8
 NaHCO_3 0.1M

Procedimiento:

TUBO	Plasma μl	H_2O μl	Urea ml
Blanco	0	100	1.9
Problema	100	0	1.9

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente
Leer en fluorómetro a 320nm de excitación y 405nm de emisión

ANEXO X: Determinación de grupos Tiol totales (SH), mediante la técnica de Habber

Reactivos:

Reactivo de Ellman, 5,5 '-ditiobis [ácido 2-nitrobenzoico] (DTNB)

Tris ph 8.2, 0.2 M

Metanol

TUBO	Tris 8.2 0.2M (μl)	Plasma (μl)	DTNB (μl)	Metanol (μl)
Calibrar	500	----	50	450
Blanco	500	50	----	450
Problema	450	50	50	450

Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos a oscuras

Centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos

Leer a 412 nm de longitud de honda

ANEXO XI: Gel de electroforesis al 15%

GEL	15 % de concentración
arclamida 44.4%	1.69 ml
Tris ISM 8.8	1.25 ml
Agua destilada	1.98 ml
Persulfato de amonio 10%	25 µl
TEMED	2.5 µl

GEL CONCENTRADOR	15 % de concentración
arclamida 44.4%	0.25 ml
Tris OSM 6.8	1.59 ml
Agua destilada	0.625 ml
Persulfato de amonio 10%	12.5 µl
TEMED	1.25 µl

MEDIO PARA 1L*
14.4 g de glicina
3g de tris base

*Se afora en 1 litro de agua.

ANEXO XII: Valores y datos del grupo control

NOMBRE	EDAD	PESO	TALLA	IMC	CINT	CAD	I/CC	% G
	24	54.2	1.6	21.17	79	93	0.84	22
	25	55.7	1.57	22.6	83.5	96.5	0.86	25.2
	24	53.1	1.59	21	74.4	89.5	0.83	18.8
	26	54.7	1.6	21.36	80	95	0.84	23.4
	25	55.4	1.52	23.9	82	96	0.85	25.2
	25	55	1.62	20.9	74	90.5	0.81	20.1
	23	56.4	1.6	22.03	73	89	0.82	22.3
	24	53.7	1.61	20.07	83.5	96	0.86	21.4
	25	53.1	1.62	20.2	82.5	95	0.86	20.9
	25	56	1.6	21.8	70	90	0.7	23.1
	26	55.8	1.55	21.7	71	88.5	0.8	23.3
	26	55	1.62	20.9	83	90	0.8	21.8
	24	54	1.61	20.8	80	95.5	0.84	19
	25	54.6	1.5	21	82	95	0.85	25
	23	56.2	1.61	21.6	78	94	0.82	21.4
	25	55.4	1.62	21.38	79	92	0.84	25

NOMBRE	Carbonilos	MDA	Ditirosinas	SH
	0.8	6.8	100	8.2
	0.8	3.2	98	8.2
	0.9	2.6	97	5
	0.8	6.4	89	13.1
	0.7	1.7	102	6.7
	0.8	1.6	99	5.4
	0.7	2.6	110	4
	0.3	3.3	89	6.7
	0.6	3.8	75	3.1
	0.6	5.6	78	2.9
	0.6	5.3	99	1.8
	0.6	4.5	80	3.6
	0.9	5.6	77	12.1
	0.9	11.7	81	7.4
	0.7	10.4	85	7.2
	0.7	4.1	90	6.4

ANEXO XIII: Valores y datos Iniciales del grupo de Dieta

NOMBRE	EDAD	PESO	TALLA	IMC	CINT	CAD	I/CC	% G
	55	86.5	1.59	34.32	98	126	0.77	47.1
	47	78.8	1.57	31.2	94	110	0.85	44.6
	54	92	1.7	31.83	104	108	0.97	40.1
	42	94.5	1.55	40.7	100	121	0.82	46.4
	49	82.8	1.5	36.1	108	118	0.91	45.8
	32	80.4	1.63	30.3	87	113	0.76	40.2
	49	89.4	1.56	36	101	116	0.87	44
	55	82.4	1.56	33.9	105	121	0.86	46.4
	51	77.7	1.58	31.1	103	116	0.88	42.7
	52	85.2	1.68	30.1	99	101	0.98	27.9
	33	80.2	1.63	27.7	83	99	0.83	36.2
	54	84.8	1.65	31.1	105	103	1.01	36.6
	21	123.9	1.82	37.4	117	118	0.99	36.8
	26	91.1	1.64	33.9	96	113	0.85	38.4
	47	90.4	1.52	39.1	113	121	0.93	45.8
	35	74.5	1.53	31.8	90	106	0.84	38.6

NOMBRE	Carbonilos	MDA	Ditirosinas	SH
	1.038	10.17	104	6.31
	6.85	8.23	110	6.03
	0.668	6.3	221	5.47
	1.304	6.1	110	5.99
	0.6	15.506	140	12.13
	0.715	2.403	104	7.67
	6.68	4.09	140	3.98
	0.455	6.68	165	4.56
	1.04	2.32	113	7.68
	3.85	5.6	61	8.45
	1.22	3.31	230	7.67
	0.731	3.68	138	6.65
	0.763	3.655	100	6.78
	0.648	5.567	145	6.2
	0.41	2.789	160	6.5
	0.46	5.76	150	7.5

ANEXO XIV: Valores y datos finales del grupo de Dieta

NOMBRE	EDAD	PESO	TALLA	IMC	CINT	CAD	I/CC	% G
	55	80.9	1.59	32	88	117	0.74	44
	47	70.9	1.57	28.8	87	102	0.8	41.3
	54	86.9	1.7	30	97	100	0.94	37
	42	86.7	1.55	37.37	91	109	0.8	40.4
	49	77.8	1.5	34.5	100	114	0.87	43.1
	32	75.4	1.63	28.4	81	109	0.74	37.3
	49	83.9	1.56	34.6	98	112	0.87	42.2
	55	74	1.56	30.4	96	115	0.83	41
	51	75.7	1.58	30.3	96	116	0.82	42.2
	52	81	1.68	28.7	95	98	0.96	26.7
	33	76.3	1.63	28.67	78	93.5	0.83	32
	54	84.1	1.65	30.9	98	103	0.95	35.2
	21	96.2	1.82	29	95	103	0.92	24
	26	82.7	1.64	30.7	87	106	0.82	35.1
	47	88.2	1.52	38.2	105	122	0.86	44.3
	35	71.3	1.53	30.5	83	104	0.79	35.6

NOMBRE	Carbonilos	MDA	Ditirosinas	SH
	0.74	1.442	129	3
	0.879	2.686	88.56	6.398
	0.668	4.963	113	11.4
	1	2.983	82.75	1.458
	0.6	10.506	91.2	3.456
	0.715	2.403	111.79	2.781
	0.663	2.488	106.2	6.423
	0.455	3.04	116.8	1.669
	0.692	3.294	109.3	4.82
	1.039	3.167	106	3.583
	0.921	4.383	110	2.282
	0.731	2.799	102	6.06
	0.763	1.88	160	3.79
	0.648	4.468	123	3.2
	0.788	1.8	100	3.46
	0.8	3.4868	123	5.34

ANEXO XV: Valores y datos iniciales del grupo de Dieta más ejercicio

NOMBRE	EDAD	PESO	TALLA	IMC	CINT	CAD	I/CC	% G
	33	100.8	1.55	40	112	126	0.88	48.1
	34	80.9	1.59	32	89	112	0.83	39.9
	40	77	1.55	32	93	105	0.88	39.1
	48	88.9	1.56	36.5	102	123	0.82	42.1
	35	75.9	1.56	31.2	93	106	0.88	37
	42	80.3	1.53	34.3	100	122	0.8	43.4
	45	73.1	1.49	33.2	91	113	0.8	43.5
	53	72	1.54	30.4	89	120	0.74	43.1
	44	74.7	1.58	30	88	108	0.81	28.5
	48	70.2	1.53	30	92	126	0.73	38.7
	49	85	1.59	33.7	102	104	0.98	44.8
	39	75.4	1.55	31.4	95	104	0.91	39.4
	34	92.7	1.63	34.9	103	127	0.81	42.5
	34	86.1	1.68	30.5	99	111	0.88	40.3
	35	79	1.57	32.11	97	111	0.87	40.6
	49	69.8	1.52	30.2	82	96	0.85	40.1

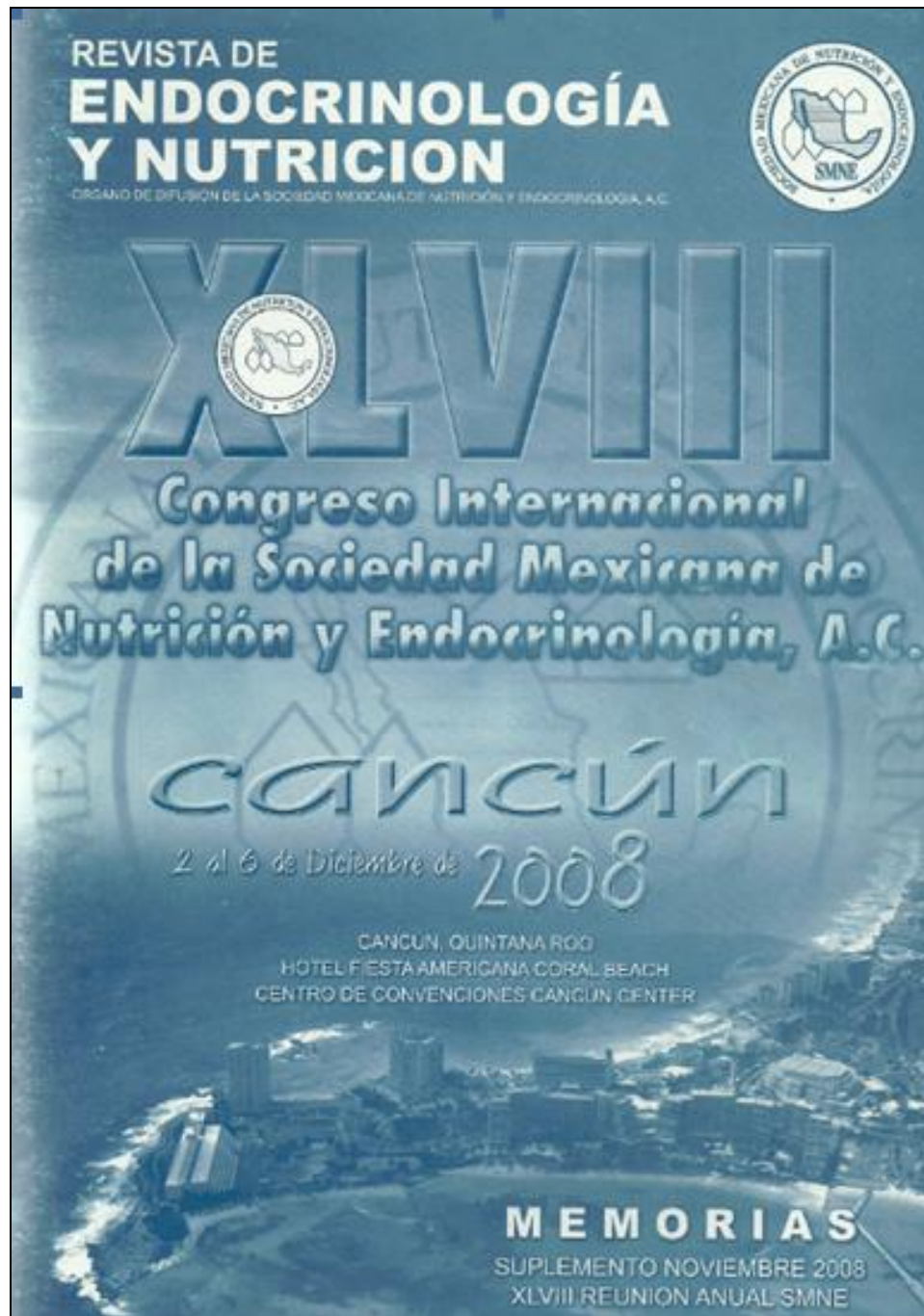
NOMBRE	Carbonilos	MDA	Ditirosinas	SH
	0.943	7.26	173	0.644
	0.943	6.91	133	7.68
	12.6	5.13	106	10.02
	0.715	6.52	130	3.97
	0.064	6.28	153	7.98
	0.42	5.82	108	7.32
	0.68	5.86	104	13.21
	8.11	4.11	105	7.34
	0.749	9.1	126.5	3.56
	0.46	7.32	126	9.56
	0.44	10.5	126.45	12.98
	1.13	3.3	120	3.45
	6.81	7.1	150	4.34
	1.85	6.28	125	4.45
	1.15	6.45	123	5.4
	1.15	6.72	130	11.23

ANEXO XVI: Valores y datos finales del grupo de Dieta más ejercicio

NOMBRE	EDAD	PESO	TALLA	IMC	CINT	CAD	I/CC	% G
	33	94.2	1.55	39.25	101	117	0.86	44.7
	34	79.9	1.59	31	84	108	0.7	39.6
	40	71.2	1.55	29.6	86	101	0.85	36.2
	48	86.5	1.56	35.5	94	117	0.8	40.7
	35	71.1	1.56	29.2	86	98	0.87	35.1
	42	76.3	1.53	32.6	84	108	0.7	42.1
	45	69.8	1.49	31.72	81	108	0.75	42.2
	53	71	1.54	29.9	81	110	0.73	41.2
	44	73.4	1.58	29.47	88	108	0.77	28
	48	64.8	1.53	27.6	89	99	0.7	34.4
	49	82.4	1.59	32.6	97	100	0.97	42.8
	39	70.7	1.55	29.4	88	100	0.88	37.1
	34	90.1	1.63	33.9	100.5	129	0.77	42.5
	34	86.4	1.68	30.6	100	110	0.9	41.3
	35	79	1.57	31.5	94	112	0.84	40.3
	49	68.8	1.52	29.7	79.5	95	0.83	38.2

NOMBRE	Carbonilos	MDA	Ditirosinas	SH
	0.943	3.959	259	4.601
	0.851	2.856	290	3.13
	0.941	2.714	142	6.666
	0.715	2.106	160	4.144
	0.064	2.177	135	5.063
	0.42	2.417	111	5.56
	0.68	2.205	139	5.37
	0.687	2.389	120	2.71
	0.482	1.626	100	3.3
	0.698	1.456	123	5.95
	0.917	8.597	157.9	9.3
	0.415	8.54	111	1.27
	0.871	2.8	152	1.29
	0.879	2.56	123	3.43
	0.878	3.2	125	3.25
	0.856	2.23	125	8.9

ANEXO XVI: Congreso de nutrición y endocrinología 2008





REVISTA DE ENDOCRINOLOGÍA Y NUTRICIÓN

Órgano de Difusión de la Sociedad Mexicana
de Nutrición y Endocrinología, A.C.

Sociedad Mexicana de Nutrición y
Endocrinología, A.C.

SUPLEMENTO NOVIEMBRE 2008

COMITÉ EDITORIAL DE LA REVISTA

Dr. Moisés Mercado Atri
Editor en Jefe

Dra. Alma Vergara López
Editora Asociada

Dra. Elisa Nishimura Meguro
Editora Asociada

Dra. Ma. Del Carmen Ramos Valdés
Coeditora

Dr. Carlos Morán Villota
Coeditor

Dr. Cuauhtémoc Vázquez Chávez
Editor Fundador

Índice:

Índice	1
Mesa Directiva, Comisiones y Consejo Consultivo	2
Bienvenida de la Mesa Directiva	5
Actividades Alternas al Programa Académico	7
Programa Acompañantes	8
Programa VI Curso Internacional SMNE/AACE	9
Programa XLVIII Congreso Internacional SMNE	10
Simpósios de la Industria	24
Profesores Nacionales	28
Profesores Internacionales	32
Premio Dr. Salvador Zubirán	37
Premio Dr. Alfonso Rivera	39
Premio Dr. Francisco Gómez Mont	41
Hoteles Participantes	42
Patrocinadores	43
Exposición Comercial	44
Mapas de Área Académica	46
Agradecimientos	51
Programa Resumido	62
Trabajos Libres	64

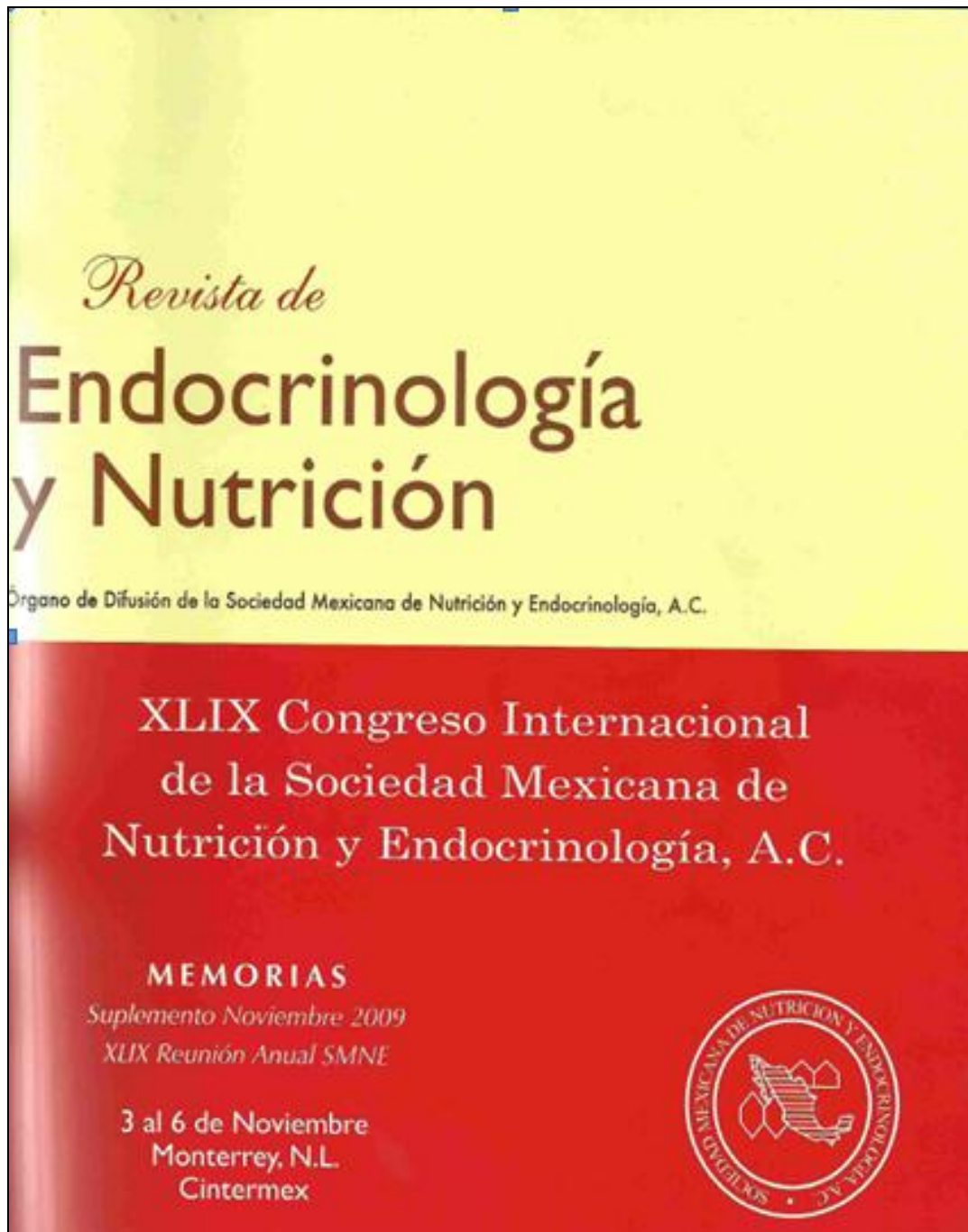
Revista de Endocrinología y Nutrición. Órgano de Difusión de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología es una publicación de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, A.C. fue fundada en 1993. Tiene un tiraje de 1,000 ejemplares por cada número. El volumen está integrado anualmente por números que recorren los meses de abril, julio, octubre y enero del año siguiente. Las innovaciones para los futuros ejemplares de esta revista se publicarán de cada año y en forma de suplementos en cada número. Dirección y correspondencia en: smne@endogal.com.mx; 55-89-85-27 o 31. Coahuila de Zaragoza, 64000, Delegación Guadalupe A. México, C.P. 67300.
El título de la presente publicación así como su contenido se encuentran debidamente autorizados y protegidos por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Licitadas, Secretaría de Gobernación, como consta en los catálogos de salud de tipo No. 1166, y de salud de Comercio No. 886. Asimismo esta publicación se encuentra debidamente protegida y registrada ante la Dirección General del Derecho de Autor, Secretaría de Educación Pública, Reserva de Derechos No. 04-2003-08261456100-002. El contenido de los artículos es responsabilidad de sus autores.

No 44

EFFECTO OXIDANTE DE LA SANGRE DE OBESAS SOBRE LA INSULINA RECOMBINANTE HUMANA. Olivares-Corichi Ivonne María, Rincón-Viquez María de Jesús*, Gutiérrez-López Liliana*, Calzada-Mendoza Claudia Camelia*, Hicks Juan José, García-Sánchez José Rubén*. Escuela Superior de Medicina del IPN D.F. México. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas" D.F. México.

Recientemente se demostró, que la sangre de pacientes diabéticos tiene la capacidad de oxidar *in vitro* a la insulina recombinante humana, induciendo modificaciones en su función hipoglucemiante en rata. Tomando en cuenta que la Diabetes Mellitus y la obesidad cursan con un estado metabólico denominado Estrés Oxidativo, nuestro **Objetivo** fue determinar si la sangre de obesas, tiene capacidad oxidante para modificar la estructura y función de la hormona peptídica insulina (*recombinante*) para lo cual se llevó a cabo la siguiente **Metodología**: Se obtuvieron muestras de sangre de obesas ($n = 20$), con IMC de 30 a 34.9 (obesidad grado 1), entre 20-40 años de edad. Se utilizó como controles insulina expuesta a sangre de personas sanas. Se colocó insulina dentro de una membrana de diálisis con un poro de 3500 Da, la cual fue sumergida en la sangre recién obtenida de las pacientes o sanas y se incubó por 3 horas a 37 °C, después de este periodo se le determinó daño oxidativo a la insulina, mediante la cuantificación de productos de peroxidación que reducen el nitroazul de tetrazolio a formazán, ditirosinas y carbonilos. El efecto hipoglucemiante se determinó en ratones. Los resultados se analizaron con una prueba de *t de student*. **Resultados**: La formación de formazan, la concentración de ditirosinas y la exposición de carbonilos libres se ve incrementada en la insulina oxidada por pacientes obesas en comparación a los controles $p < 0.05$. El efecto hipoglucemiante de la insulina oxidada por la sangre de obesas probada en ratón, se ve disminuida en un 20%. **Conclusión**: La capacidad oxidante de la sangre de obesas grado 1, puede inducir cambios químicos en la insulina, modificando su función biológica. Lo cual nos indicaría que este podría ser un factor más que contribuye en la resistencia a la insulina asociada con obesidad.

ANEXO XVII: Congreso de nutrición y endocrinología 2009



	REVISTA DE ENDOCRINOLOGÍA Y NUTRICIÓN																																								
Órgano de Difusión de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, A.C.																																									
Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, A.C.	SUPLEMENTO NOVIEMBRE 2009																																								
COMITÉ EDITORIAL DE LA REVISTA	Índice:																																								
Dr. Moisés Mercado Atri Editor en Jefe	<table> <tr><td>Índice</td><td>1</td></tr> <tr><td>Mesa Directiva, Comisiones y Consejo Consultivo</td><td>2</td></tr> <tr><td>Bienvenida de la Mesa Directiva</td><td>5</td></tr> <tr><td>Actividades Afines al Programa Académico</td><td>7</td></tr> <tr><td>Programa Acompañantes</td><td>8</td></tr> <tr><td>Programa VII Curso Internacional SMNE/ANCF</td><td>12</td></tr> <tr><td>Programa XLIX Congreso Internacional SMNE</td><td>17</td></tr> <tr><td>Simpósios organizados por Patrocinadores</td><td>33</td></tr> <tr><td>Profesores Nacionales</td><td>34</td></tr> <tr><td>Profesores Internacionales</td><td>41</td></tr> <tr><td>Premio Dr. Salvador Zubirán</td><td>44</td></tr> <tr><td>Premio Dr. Francisco Gómez Mont</td><td>45</td></tr> <tr><td>Premio Dr. Alfonso Rivera</td><td>47</td></tr> <tr><td>Hotelería Participantes</td><td>48</td></tr> <tr><td>Patrocinadores</td><td>49</td></tr> <tr><td>Programa Resumido</td><td>50</td></tr> <tr><td>Mapas de Área Académica</td><td>52</td></tr> <tr><td>Exposición Comercial</td><td>53</td></tr> <tr><td>Trabajos Libres</td><td>55</td></tr> <tr><td>Agradecimientos</td><td>98</td></tr> </table>	Índice	1	Mesa Directiva, Comisiones y Consejo Consultivo	2	Bienvenida de la Mesa Directiva	5	Actividades Afines al Programa Académico	7	Programa Acompañantes	8	Programa VII Curso Internacional SMNE/ANCF	12	Programa XLIX Congreso Internacional SMNE	17	Simpósios organizados por Patrocinadores	33	Profesores Nacionales	34	Profesores Internacionales	41	Premio Dr. Salvador Zubirán	44	Premio Dr. Francisco Gómez Mont	45	Premio Dr. Alfonso Rivera	47	Hotelería Participantes	48	Patrocinadores	49	Programa Resumido	50	Mapas de Área Académica	52	Exposición Comercial	53	Trabajos Libres	55	Agradecimientos	98
Índice	1																																								
Mesa Directiva, Comisiones y Consejo Consultivo	2																																								
Bienvenida de la Mesa Directiva	5																																								
Actividades Afines al Programa Académico	7																																								
Programa Acompañantes	8																																								
Programa VII Curso Internacional SMNE/ANCF	12																																								
Programa XLIX Congreso Internacional SMNE	17																																								
Simpósios organizados por Patrocinadores	33																																								
Profesores Nacionales	34																																								
Profesores Internacionales	41																																								
Premio Dr. Salvador Zubirán	44																																								
Premio Dr. Francisco Gómez Mont	45																																								
Premio Dr. Alfonso Rivera	47																																								
Hotelería Participantes	48																																								
Patrocinadores	49																																								
Programa Resumido	50																																								
Mapas de Área Académica	52																																								
Exposición Comercial	53																																								
Trabajos Libres	55																																								
Agradecimientos	98																																								
Dra. Alma Vergara López Editora Asociada																																									
Dra. Elisa Nishimura Meguro Editora Asociada																																									
Dra. Ma. del Carmen Ramos Valdés Coeditora																																									
Dr. Carlos Morán Villota Coeditor																																									
Dr. Cuauhtémoc Vázquez Chávez Editor Fundador																																									
<p>Revista de Endocrinología y Nutrición. Órgano de Difusión de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. Es una publicación de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, A.C. fue fundada en 1990. Tiene un total de 1,000 ejemplares por cada número. El volumen está integrado anualmente por números que aparecen los meses de abril, julio, octubre y enero del año siguiente. Las contribuciones para los artículos aparecen en orden alfabético en el primer número de cada año en forma resumida en cada número. Dirección y correspondencia en: emne@investigador.com.mx o emne@investigador.com.mx. El título de la presente publicación así como su contenido se encuentran debidamente registrados y protegidos por el Comité Calificador del Poder Judicial de la Federación, Secretaría de Gobernación, como consta en los expedientes de Trademark No. 9666 y de Control de Contenido No. 4906. Asimismo esta publicación se encuentra debidamente protegida y registrada ante la Dirección General del Derecho de Autor, Secretaría de Educación Pública. Reserva de Derechos No. 04-2003-062614542100-103. El contenido de los artículos es responsabilidad de sus autores.</p>																																									

No. 60

SOCIEDAD MEXICANA DE NUTRICIÓN Y ENDOCRINOLOGÍA

EFFECTO DE LA DIETA, EL EJERCICIO Y LOS ANTIOXIDANTES SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL PLASMA DE PACIENTES OBESAS. Liliana Gutiérrez López*, José R. García Sánchez*, Eleazar Lara Padilla*, Claudia C. Calzada-Mendoza *, José R. López-Hernández*, Ivonne M. Olivares Corichi. Escuela Superior de Medicina del IPN D.F. México.

Se plantea la posibilidad de que el daño a lípidos y proteínas por estrés oxidativo (EO) en pacientes obesas se vea disminuido en mayor medida, al aplicar de manera simultánea una dieta hipocalórica, actividad física controlada (ejercicio moderado) y una suplementación con una mezcla de antioxidantes. **Objetivo:** Evaluar en plasma de pacientes obesas el daño a lípidos y proteínas por EO, antes y después del tratamiento con dieta hipocalórica, ejercicio moderado y antioxidantes. **Material y métodos:** Se formaron tres grupos de pacientes obesas. Grupo 1 con dieta hipocalórica (D); grupo 2 dieta hipocalórica y ejercicio moderado (DE); grupo 3 dieta, ejercicio moderado y una mezcla de antioxidantes (DEA). Antes y después (3 meses) de los tratamientos, en plasma de estas pacientes se determinó el estado metabólico de estrés oxidativo cuantificando: compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT), dímeros de tirosina (ditirosinas), y exposición de grupos carbonilos. **Resultados:** Los índices antropométricos peso, porcentaje de grasa, índice de masa corporal, cintura, cadera, índice cintura cadera, mostraron una disminución estadísticamente significativa en los tres grupos, después de los tratamientos. En las variables bioquímicas clínicas, insulina, glucosa, triglicéridos, colesterol, HDL, LDL, y leucocitos, hay cambios estadísticamente significativos en el grupo de dieta y en el de DE. Las concentraciones de CRAT disminuyeron 60% en los tres tratamientos. En los grupos carbonilo, no hubo diferencias en ningún grupo. Las concentraciones de ditirosinas disminuyeron un 30, 21 y 11 % con dieta hipocalórica, DE y DEA, respectivamente. **Conclusiones:** La dieta hipocalórica es una alternativa efectiva para disminuir el estrés oxidativo y para bajar de peso, condición que es favorable para prevenir la resistencia a la insulina. La combinación de dieta hipocalórica y ejercicio moderado en las condiciones de este trabajo es útil para disminuir los valores antropométricos pero es menos útil para reducir el estrés oxidativo. La combinación de dieta más ejercicio moderado más antioxidantes no es eficiente para disminuir el estrés oxidativo.

Llenar los siguientes datos:

Área: 5

Nombre completo de quien presenta: Liliana Gutiérrez López

Institución: Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional

e-mail: dra_liliana@ yahoo.com.mx

Teléfono: (01) 555729-6000 ext 62820



SOCIEDAD MEXICANA DE NUTRICIÓN Y ENDOCRINOLOGÍA

Otorga la presente

CONSTANCIA

Mesa Directiva
2008 - 2009

Dr. Salvador Zubaira Anchondo 1
Fundador

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas
Presidente

Dr. Carlos Ortega González
Secretario

Dr. Sergio Hernández Jiménez
Tesorero

Dr. Ignacio Martínez Delgado
Vicepresidente

Dr. Alejandro Sosa Caladilla
Subsecretario

Dr. Víctor Manuel Flores Rabago
Subtesorero

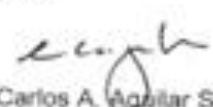
A: Liliana Gutiérrez López, José R. García Sánchez,
Eleazar Lara Padilla, Claudia C. Calzada Mendoza, José
R. López Hernández, Ivonne M. Olivares Corichi


Por la presentación del trabajo titulado:

**"EFECTO DE LA DIETA, EL EJERCICIO Y LOS
ANTIOXIDANTES SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO
EN EL PLASMA DE PACIENTES OBESAS"**

Durante el XLIX Congreso Internacional de esta
Sociedad, llevado a cabo del 3 al 6 de Noviembre en la
Ciudad de Monterrey, Nuevo León.

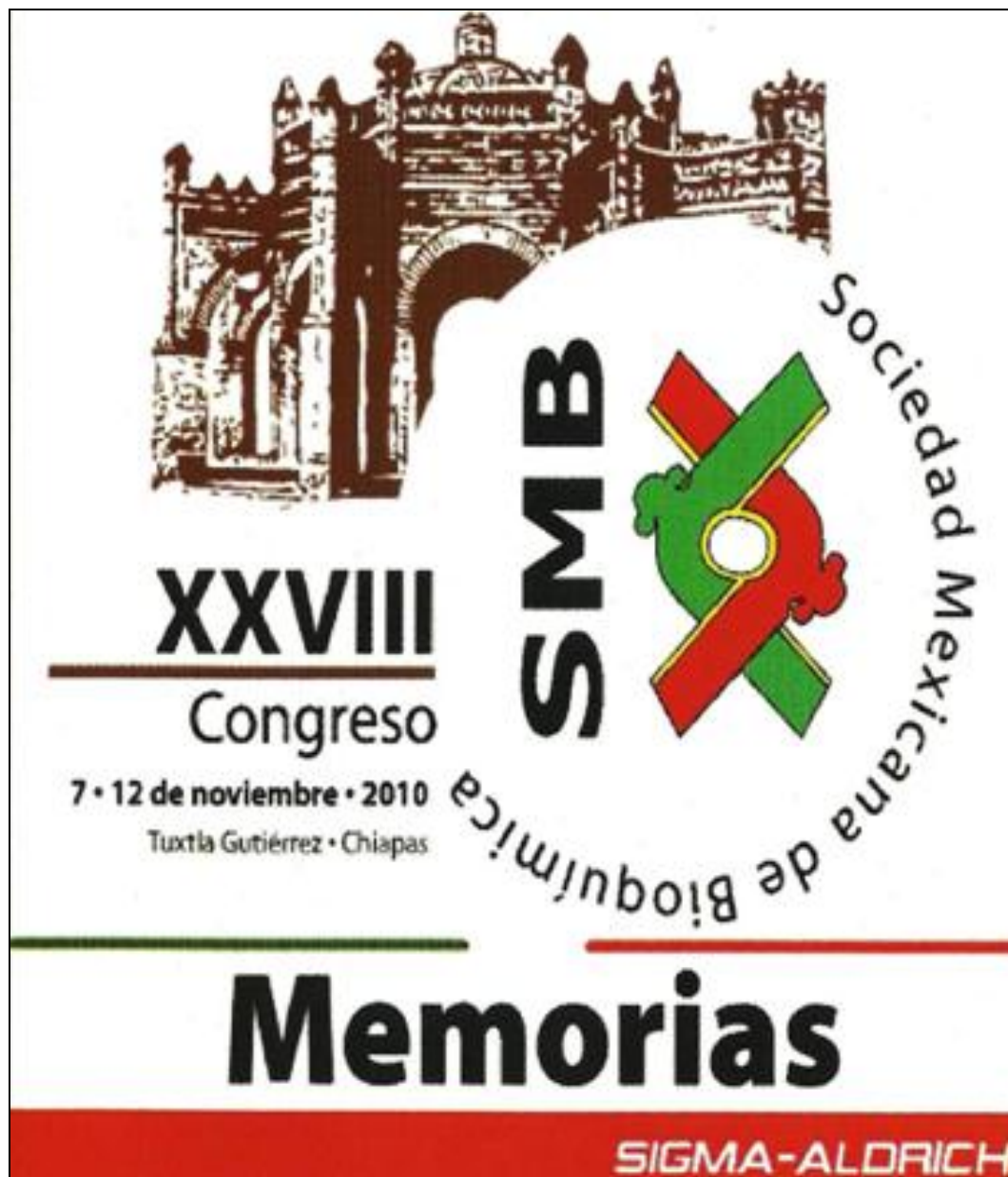
Noviembre 2009.


Dr. Carlos A. Aguilar Salinas
Presidente


Dr. Carlos Ortega González
Secretario


Dr. Sergio Hernández J.
Tesorero

ANEXO XVIII: XXVIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Bioquímica 2010





Estado oxidante/antioxidante en pacientes obesas antes y después de una dieta y ejercicio: cambios estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes obesas.

Ivonne María Olivares Corichi
Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional


Liliana Gutiérrez López-Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional

Eleazar Lara Padilla-Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional

Alberto Pizafía Venegas-Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias


José Rubén García Sánchez-Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional

Introducción: Se ha demostrado que la insulina recombinante humana (IRH) puede ser modificada en su estructura y función por el estrés oxidativo (EO) presente en la sangre de pacientes diabéticos y obesos grado 1, lo cual se ha propuesto como parte del mecanismo que induce a la resistencia a la insulina. **Objetivo:** Evaluar si las modificaciones químicas, estructurales y funcionales inducidas en la IRH por la sangre de pacientes obesas disminuyen con el tratamiento de dieta hipocalórica (DH) y ejercicio moderado (EM). **Metodología:** Se emplearon muestras sanguíneas de pacientes con Índice de Masa Corporal (IMC) de 30-34.9 (Obesidad 1), entre 20 y 40 años de edad. Sangre de personas con IMC 20-24.9 como controles. Se colocó IRH dentro de una bolsa de diálisis con un poro de 3,500 Da, sumergiéndola en la sangre e incubando durante 3 h a 37°C. Posteriormente a la insulina se le determinó daño oxidativo (cuantificación de formazán y grupos carbonilo), se analizó su patrón electroforético y se evaluó su efecto hipoglicémico en un modelo animal (ratón). Todo lo anterior se realizó antes y después del tratamiento con DH y EM. **Resultados:** Se observó que la incubación de IRH en sangre de paciente obeso generó altas concentraciones de grupos carbonilo y formazán. También se observó una modificación estructural (formación de polímeros de insulina) y una disminución del 18% en la capacidad hipoglicémica de la hormona. Las alteraciones mencionadas, fueron disminuidas después del tratamiento con DH y EM. **Conclusiones:** El EO presente en la sangre de pacientes obesos induce modificaciones químicas y estructurales en la insulina que alteran su funcionalidad lo cual fue disminuido con la DH y el EM, condición que puede disminuir el riesgo a la resistencia a la insulina.



SMB

CARTELES



400. Los genes *MNT3*, *MNT4* y *MNT5* de *Candida albicans* codifican para manosiltransferasas involucradas en la elaboración de fosfomananas y N-mananas de la pared celular. Mora Montes, H. M., Díaz Jiménez, D. F. y Flores Carreón, A. Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato
401. Estudio de las interacciones entre las subunidades ASA del brazo periférico de la ATP sintasa mitocondrial de *Polystomella* sp. Miranda Astudillo, H. V., Cano Estrada, E. A., Vázquez Acevedo, M., Torres Larios, A., González Halphen, D. Instituto de Fisiología Celular. UNAM
402. Clonación, sobreexpresión, purificación y caracterización preliminar de la isoforma corta de la piruvato cinasa de *Giardia lamblia*. García Torres, I., Hernández Alcántara, G., Méndez Cruz, S. T., Castillo Villanueva, A., Torres Arroyo, A., De la Mora de la Mora, I., Enriquez Flores, S., Gómez Manzo, S., López Velázquez, G., Reyes Vivas, H. Laboratorio de Bioquímica Genética. Instituto Nacional de Pediatría.
403. Desamidación en la trifosfato isomerasa de humano. Una aproximación a su estudio mediante mutagénesis dirigida. De la Mora de la Mora, JI. Instituto Nacional de Pediatría.
404. Efectos de la diabetes en la actividad mitocondrial del tejido nervioso de la rata. Osorio-Paz, I., Barjau D, Uribe S, Salceda R. Instituto de Fisiología Celular. UNAM
405. Participación de la cinasa mTOR en la transducción de las señales angiogénicas mediadas por los receptores CXCR4. Valencia Martínez, I., Carretero Ortega, J., Reyes Cruz, G., Vázquez Prado, J. UNAM
406. Estado oxidante/antioxidante en pacientes obesas antes y después de una dieta y ejercicio: cambios estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes obesas. Olivares Corichi, I. M., Gutiérrez López, L., Pizaña Venegas, A., García Sánchez, J. R. Escuela Superior de Medicina, IPN
407. Actividades manitol deshidrogenasa (MDH) presentes en *Mucor circinelloides* cepa YR-1. González Casillas, J. L., Durón Castellanos, A., Camacho Morales, R. L., Zazueta Sandoval, R. División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato.
408. Efecto del resveratrol en la expresión de SERCA2a en corazones de ratones haploinsuficientes para el gen *ATP2A2*. Guzmán Bárcenas, J., Rodríguez Rodríguez, G. y Zarnin Herzberg, A. Facultad de Medicina. UNAM
409. Purificación y caracterización de lectinas de la ruda (*Ruta graveolens* L.). Hernández Salazar J., Letochipia Vallejo G., Vázquez Hernández A., Arreguín Espinosa R., Fenton Navarro B. Universidad Michoacana
410. La participación de hsp60 en la esteroidogénesis de placenta humana. Monreal Flores., J., Olvera Sánchez, S. y Martínez, F. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNAM

MESA DIRECTIVA 2008 - 2011

PRESIDENTE
DR. JORGE VÁZQUEZ RAMOS

VICE-PRESIDENTE
DR. JESÚS AGUIRRE LINARES

SECRETARIO TESORERO
DRA. CLORINDA XIRAS ÁLVAREZ

SUB-SECRETARIO TESORERO
DR. EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Barbarín Arreguín Lozano
Dr. Edmundo Celva Cuadrón
Dr. Guillermo Carrvajal Sandoval
Dr. Joaquín Cravito (+)
Dr. Carlos del Río Estrada (+)
Dr. Silvestre Frank Freund
Dr. Mario García Hernández (+)
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kuriat Rodríguez
Dr. José Laguna Gamit
Dr. Guillermo Masiles Higuera (+)
Dr. Raúl Oñate Vidueta
Dr. Elvira G. Pardo Codina
Dr. Guillermo Sobrón Acevedo

La Sociedad Mexicana de Bioquímica otorga la presente

CONSTANCIA

a :

Ivonne María Olivares Corichi

Quien asistió y presentó el trabajo:

Estado oxidante/antioxidante en pacientes obesas antes y después de una dieta y ejercicio: cambios estructurales de la insulina expuesta a sangre de pacientes obesas.

Por:

Ivonne María Olivares Corichi, Liliana Gutiérrez López, Eleazar Lara Padilla, Alberto Pizaña Venegas, José Rubén García Sánchez.

Dentro de la modalidad de cartel durante el XXVIII Congreso Nacional de Bioquímica del 7 al 12 de Noviembre en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Atentamente
Por el Comité Organizador



Dr. Jorge Vázquez Ramos
Presidente

ANEXO XIX: XXVIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Bioquímica 2010





EFFECTO DEL ESTRÉS OXIDATIVO PRESENTE EN LA SANGRE DE MUJERES OBESAS, SOBRE LA ESTRUCTURA QUÍMICA Y FUNCIÓN DE LA INSULINA.

María de Jesús Rincón Víquez
Escuela Superior de Medicina - Instituto Politécnico Nacional

José Rubén García Sánchez-Escuela Superior de Medicina - Instituto Politécnico Nacional
Liliana Gutiérrez López-Escuela Superior de Medicina - Instituto Politécnico Nacional

José Roberto López Hernández-Escuela Superior de Medicina - Instituto Politécnico Nacional

Ivonne María Olivares Corichi-Escuela Superior de Medicina - Instituto Politécnico Nacional

Introducción: En el estrés oxidativo (EO) el exceso de especies reactivas de oxígeno pueden interactuar con biomoléculas celulares y circulantes alterando su estructura y función. El EO ha sido asociado con múltiples patologías como diabetes mellitus, cáncer, obesidad, entre otras. Recientemente demostramos *in vitro*, que la oxidación de insulina recombinante humana (IRH) modifica su función hipoglicémica. **Objetivo:** Evaluar las modificaciones químicas y funcionales de la IRH, inducidas por EO presente en sangre de mujeres obesas. **Metodología:** Se emplearon muestras sanguíneas de pacientes con Índice de Masa Corporal (IMC) 30-34.9 (Obesidad 1), entre 20 y 40 años de edad. Sangre de personas sanas con IMC 20-24.9 como controles. Se colocó IRH dentro de una bolsa de diálisis con un poro de 3,500 Da, sumergiéndola en la sangre e incubando durante 3 h a 37°C. Posteriormente se recuperó la insulina y se le determinó daño oxidativo (cuantificación de formazán y grupos carbonilo), se analizó su patrón electroforético y se evaluó su efecto hipoglicémico en un modelo animal (ratón). **Resultados:** Se observó que la incubación de IRH en sangre de paciente obeso generó a) un incremento en la concentración de grupos carbonilo (2.80 ± 0.44 nmol asazonas/mg proteína) y formazán (83.5 ± 7.8 nmol formazán/mg proteína) en comparación al grupo control (1.63 ± 0.3 nmol asazonas/mg proteína y 65.5 ± 4.9 nmol formazán/mg proteína respectivamente). b) Una modificación estructural (formación de polímeros de insulina) y c) una disminución del 18% en la capacidad hipoglicémica de la hormona. **Conclusión:** El EO presente en la sangre de pacientes obesos induce modificaciones químicas y estructurales en la insulina que alteran su funcionalidad.

Martes 9 de noviembre, 2010

16:00 – 17:30 Presentaciones Libres
Salón Camino Real 3

Estrés Oxidativo

Preside: **María Eugenia Gonschatt Bonaparte**
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

- | | |
|---------------|---|
| 16:00 – 16:15 | Evaluación de la respuesta enzimática antioxidante en amígdala y corteza prefrontal producida por un estímulo ansiogénico agudo.
Mejía Carmona GE , Martínez Martínez A, y Pérez Ishiwara DG.
Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, IPN |
| 16:15 – 16:30 | Papel del estrés oxidativo en el proceso de transformación celular inducido por la mezcla de metales de Arsénico, Cadmio y Plomo.
Silva Aguilar ME , Rojas Del Castillo E y Valverde Ramírez M.
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM |
| 16:30 – 16:45 | Estudio sobre el efecto antioxidante de la curcumina en la insuficiencia renal aguda inducida por dicromato de potasio.
Molina Jijón E , Pedraza Chaverri J y Tapia Rodríguez E.
Facultad de Química, UNAM |
| 16:45 – 17:00 | Respuesta antioxidante inducida por quercetina en linfocitos humanos circulantes
Vargas Caraveo A , De la Rosa Carrillo L, Salas Benito J, Martínez Martínez A.
Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, IPN |
| 17:00 – 17:15 | Efecto del estrés oxidativo presente en la sangre de mujeres obesas, sobre la estructura química y función de la insulina.
Rincón Viquez M de J , García Sánchez JR, Gutiérrez López L, López Hernández JR, Olivares Corichi IM.
Escuela Superior de Medicina, IPN |
| 17:15 – 17:30 | Evaluación del estrés oxidativo en ostiones (<i>Crassostrea corteziensis</i>) y su relación con niveles de contaminación.
Girón Pérez MI , Toledo Ibarra GA, Ibarra Guzmán C, Rojas García AE, Medina Díaz IM, Robledo Marengo ML, García Latorre E, Vega López A.
Universidad Autónoma de Nayarit |

17:30 – 20:30 Sesión de Carteles Números Nones. Salón Montecarlo. Crowne Plaza



Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.
FUNDADA EN 1957

AV. CIPRESSE S/N COL. SAN ANDRÉS TOTOLTEPEC,
C.R. 14420 MÉXICO, D.F. (CASA TULAHUAC)
APARTADO POSTAL 70-800
TEL. Y FAX: 9623-4742
TEL. 9623-5803
http://smb.org.mx
Correo electrónico: smb@smb.org.mx

MESA DIRECTIVA 2000 - 2001
PRESIDENTE
DR. JORGE VÁZQUEZ RAMOS
VICEPRESIDENTE
DR. JESÚS AGUIRRE LIRIO
SECRETARIO TESORERO
DRA. ELIZABETH ARÍAS ÁLVAREZ
COORDINADOR TERCERO
DR. EMILIO VELAZQUEZ DEL CASTILLO

SOCIOS FUNDADORES
Dr. Bartolomé Amador Lozano
Dr. Edmundo Ceballos Cuadilla
Dr. Guillermo Canales Sandoval
Dr. Joaquín Corral (†)
Dr. Carlos del Río Estrada (†)
Dr. Silvestre Pineda Pineda
Dr. María García Hernández (†)
Dr. Jesús García García
Dr. Jesús Karama Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Sánchez Helguera (†)
Dr. Raúl Ovidio Vidarreta
Dr. Elvira G. Pardo Cordero
Dr. Guillermo Roberto Acevedo

La Sociedad Mexicana de Bioquímica otorga la presente

CONSTANCIA

a :

María de Jesús Rincón Viquez

Quien asistió y presentó el trabajo:

Efecto del estrés oxidativo presente en la sangre de mujeres obesas, sobre la estructura química y función de la insulina.

Por:

María de Jesús Rincón Viquez, José Rubén García Sánchez, Liliana Gutiérrez López, José Roberto López Hernández, Ivonne María Olvera Corichi.

Dentro de la modalidad oral durante el XXVIII Congreso Nacional de Bioquímica del 7 al 12 de Noviembre en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Atentamente
Por el Comité Organizador



Dr. Jorge Vázquez Ramos
Presidente

ANEXO XX: Congreso de investigación en Medicina de la Escuela Superior de Medicina del IPN 2010



1. Congreso de investigación en Medicina de la ESM 2010

Efecto de la dieta, el ejercicio y los antioxidantes sobre el estrés oxidativo en plasma de pacientes obesas

Gutiérrez López L
Lara Padilla E, García Sánchez JR, Rincón Viquez MJ, Olivares Corichi IM

La obesidad cursa con estrés oxidativo. Se plantea que el daño por estrés oxidativo disminuya, al aplicar simultáneamente, dieta hipocalórica, actividad física controlada y una suplementación de antioxidantes. **Objetivo:** Evaluar en el plasma de obesas daño a biomoléculas (lípidos y proteínas) por estrés oxidativo, antes y después del tratamiento dieta hipocalórica, ejercicio moderado y antioxidantes. **Material y métodos.** Tres grupos. Dieta hipocalórica (D), Dieta hipocalórica y actividad física moderada (DE), Dieta, actividad física moderada y mezcla de antioxidantes (DEA). Cuantificando en plasma marcadores de estrés oxidativo: CRAT, ditirosinas, y grupos carbonilos. Por 3 meses, inicial, final. **Resultados:** Los índices antropométricos, disminuyeron en los tres grupos, las variables bioquímicas clínicas, hay cambios en D y DE. El daño a lípidos disminuyó 60% en los tres sin significancia en DE y DEA. Carbonilos, no hay diferencias en inicio y final. Las ditirosinas disminuyen un 30.51% después de D. DE, DEA hay disminución en las ditirosinas (21 y 11 %), sin diferencia. La superóxido dismutasa, disminuyó 18% en D después de 90 días, DE disminuyó 24% y DEA 14%, pero solo en los dos primeros es significativo. **Conclusiones:** El grado del estrés depende del IMC. La dieta hipocalórica es efectiva para disminuirlo, y para bajar de peso, la combinación de DE es útil para disminuir los antropométricos pero menos útil para reducir el estrés oxidativo. La combinación de DEA, el uso de los antioxidantes tienen un efecto prooxidante. Con los

Resumen Anterior Resúmenes del 41 al 50 Contenido Siguiente Resumen



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA



A

Gutiérrez López Liliana, Lara Padilla Eleazar, Rincón Viquez María de Jesús, García Sánchez José Rubén, Olivares Corichi Ivonne María

Por su destacada participación con el trabajo

"Efecto de la dieta, el ejercicio y los antioxidantes sobre el estrés oxidativo en plasma de pacientes obesas"

En el marco del VIII Congreso de Investigación en Medicina de la Escuela Superior de Medicina, celebrado del 10 al 12 de Marzo de 2010

"La Técnica al Servicio de la Patria"

DR. RICARDO J. GARCÍA CAVAZOS
DIRECTOR DE LA ESCUELA



2. Congreso de investigación en Medicina ESM 2010

capacidad oxidante de la sangre de obesas sobre la insulina recombinante humana

Rincón-Viquez MU
Gutiérrez-López L I García-Sánchez JR I Ceballos-Reyes GM I Olivares-Corichi MI

Introducción: Considerando que las enfermedades crónico-degenerativas cursan con Estrés Oxidativo y recientemente se demostró que la capacidad oxidante de la sangre de pacientes diabéticos induce modificaciones químicas y funcionales en la insulina, nuestro objetivo fue determinar si la sangre de pacientes obesos, modifica la estructura química y la función de la insulina recombinante humana (IRH); llevando a cabo la siguiente metodología; se obtuvieron muestras sanguíneas de pacientes con sobrepeso (n=16) y obesidad 1 (n=16), entre 20 y 40 años de edad, utilizando sangre de personas sanas (n=16) con IMC 20-24.9 como controles. Se colocó IRH dentro de una bolsa de diálisis con un poro de 3,500 Da, sumergiéndola en la sangre recién obtenida de las pacientes incubando 3 horas a 37°C, posteriormente se determinó daño oxidativo a la insulina cuantificando formazán y grupos carbonilo y se evaluó el efecto hipoglicémico de la insulina en ratón. Los resultados obtenidos fueron: a) un incremento en las concentraciones de grupos carbonilo en ambos grupos estudiados, sobrepeso (2.58 ± 0.4 nmol asazonas/mg proteína) y obesidad 1 (2.80 ± 0.44 nmol asazonas/mg proteína) en comparación al grupo control (1.63 ± 0.34 nmol asazonas/mg proteína); b) un incremento de formazán en el grupo de obesidad 1 (83.5 ± 7.8 nmol formazán/mg de proteína) en comparación con el grupo control y c) una disminución del 18% en el efecto hipoglicémico de la insulina oxidada por sangre de pacientes obesos, concluyendo, que la capacidad oxidante de la sangre de pacientes con obesidad 1

Resumen Anterior Resúmenes del 41 al 50 Contenido Siguiente Resumen

 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

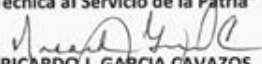
Rincón Viquez María de Jesús, Gutiérrez López Liliana, García Sánchez José Rubén,
Ceballos Reyes Guillermo Manuel, Olivares Corichi Ivonne María

Por su destacada participación con el trabajo

"Capacidad oxidante de la sangre de obesas sobre la insulina recombinante humana"

En el marco del VIII Congreso de Investigación en Medicina de la Escuela Superior de Medicina, celebrado del 10 al 12 de Marzo de 2010

"La Técnica al Servicio de la Patria"


DR. RICARDO J. GARCÍA CAVAZOS
DIRECTOR DE LA ESCUELA



3. Congreso de investigación en Medicina de la ESM 2010

Estado oxidante/antioxidante del plasma de mujeres con diferentes índices de masa corporal

López-Hernández JR
García-Sánchez JR, Rincón-Viquez MJ, Gutiérrez-López L, Estrada Salazar LA, Ceballos Reyes MG, Olivares-Corichi IM

Introducción: La obesidad es una patología asociada con inflamación y con un estado metabólico denominado Estrés Oxidativo. **Objetivo:** determinar si el grado de obesidad está asociado con los niveles de estrés oxidativo, para lo cual se llevó a cabo la siguiente metodología; se tomaron muestras sanguíneas para obtener plasma de pacientes con sobrepeso (IMC 25-29.9) y obesidad 1 (IMC 30-34.9), de 20-40 años de edad. Como control se usó plasma de personas sanas (IMC 20-24.9). En el plasma se cuantificó: a) Malondialdehído (MDA) como marcador de daño a lípidos por estrés oxidativo b) grupos carbonilo como: marcador de daño a proteínas y c) grupos SH como marcador de defensa antioxidante. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba pos hoc de Bonferroni, los resultados se muestran como promedios \pm DE y el valor de $p < 0.5$ se consideró estadísticamente significativo. Los resultados obtenidos fueron un incremento en las concentraciones de MDA en los grupos de sobrepeso y obesidad 1 (6.0 ± 0.5 y $6.5 \pm 1.2 \mu\text{M}$, respectivamente) en comparación al control ($4.1 \pm 0.4 \mu\text{M}$). Las concentraciones de los grupos carbonilos no fueron diferentes estadísticamente entre controles, sobrepeso y obesas (0.71 ± 0.06 , 0.78 ± 0.08 y $0.79 \pm 0.05 \text{ nmol de osazonas/mg prot}$, respectivamente). En cuanto a las concentraciones de los grupos SH se observa una disminución en los grupos de sobrepeso y obesidad en comparación con el grupo control (3.3 ± 0.4 , 3.6 ± 0.7 y $5.7 \pm 0.7 \text{ nmol/mg proteína}$, respectivamente), con lo que podemos concluir que el

Resumen Anterior Resúmenes del 51 al 60 Contenido Siguiente Resumen

 **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN 

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

Estrada Salazar Luis Antonio, García Sánchez José Rubén, Rincón Viquez María de Jesús,
Gutiérrez López Liliana, López Hernández José Roberto, Olivares Corichi Ivonne María

Por su destacada participación con el trabajo

"Grado de estrés oxidativo en plasma de mujeres con diferentes índices de masa corporal"


En el marco del VIII Congreso de Investigación en Medicina de la Escuela Superior de Medicina, celebrado del 10 al 12 de Marzo de 2010

"La Técnica al Servicio de la Patria"


DR. RICARDO J. GARCÍA CAVAZOS
DIRECTOR DE LA ESCUELA


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
DIRECCIÓN

ANEXO XXI: 11ª feria de Posgrados de calidad CONACyT 2010



**RESALTA LA PRESENCIA DE
TU INSTITUCIÓN EN LA
11ª FERIA DE POSGRADOS**

Exprésalo con un poster

Este año el CONACyT destinará un espacio especial dentro de la 11ª Feria de Posgrados de Calidad para que las instituciones participantes puedan exponer posters donde se expresen resultados de trabajos de investigación y la interacción entre investigadores y estudiantes de los Programas de Posgrado pertenecientes al PNPC.



Instituto Politécnico Nacional
Secretaría de Investigación y Posgrado
Dirección de Posgrado



Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a: **Liliana Gutiérrez López**

Programa: Especialidad en Medicina del Deporte
Unidad Académica: Escuela Superior de Medicina

por su participación en la muestra especial dentro de la
11ª Feria de Posgrados de Calidad CONACyT 2010

Exprésalo con un Cartel

llevado a cabo los días 17 y 18 de mayo del presente en el
Centro de Formación e Innovación Educativa del IPN.

México, D.F., a 24 de junio de 2010



Dr. Jaime Álvarez Gálvez
Secretario de Investigación y Posgrado



SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

La Técnica al Servicio de la Patria



SEP

GOBIERNO FEDERAL
MÉXICO 2010





Efecto del estrés oxidativo presente en la sangre de mujeres obesas, sobre la estructura química y función de la insulina.

M. J. Rincón-Viquez, J.R. García-Sánchez, L. Gutiérrez-López, G.M. Ceballos Reyes, I. M. Olivares-Corichi.
Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina del IPN.
Programa de Posgrado Doctorado en Investigación en Medicina



ANTECEDENTES.

Si los sistemas productores de especies reactivas de oxígeno (ERO) sobrepasan la capacidad antioxidante (antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos) del organismo, se genera un desequilibrio metabólico denominado **ESTRÉS OXIDATIVO (EO)**¹. El exceso de ERO tienen la capacidad de interactuar con biomoléculas circulantes y celulares, alterando su estructura y función, por lo anterior el EO se ha asociado con múltiples patologías como Diabetes Mellitus tipo 2, enfermedad cardiovascular, cáncer, obesidad, entre otras². Recientemente demostramos que la sangre de pacientes diabéticos tiene la capacidad de oxidar *in vitro* la Insulina recombinante humana (IRH), generando modificaciones y alterando su función hipoglucemiante³.

OBJETIVO.

Evaluar las modificaciones químicas y funcionales de la Insulina recombinante humana, inducidas por estrés oxidativo presente en sangre de mujeres obesas.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron muestras sanguíneas de pacientes con sobrepeso (n=16) y obesidad 1 (n=16), entre 20 y 40 años de edad. Sangre de personas sanas (n=16) con IMC 20-24.9 fueron empleadas como controles. Se colocó IRH dentro de una bolsa de diálisis con un peso de 3,500Da, la cual se sumergió en la sangre e incubó durante 3 horas a 37°C. Posteriormente se recuperó la insulina y se le determinó daño oxidativo (cuantificación de formazán y grupos carbonilo), además se analizó su patrón electroforético y su efecto hipoglucemiante en ratón.

RESULTADOS.

Parámetros antropométricos y glicemias basales de los grupos en estudio.

Parámetro	control (n=16)	sobrepeso (n=16)	obesidad 1 (n=16)
Peso (Kg)	64.7 ± 1.7	70.6 ± 1.8*	82.1 ± 2.8
Edad (a)	26.8 ± 1.4	25.2 ± 1.1	28.6 ± 1.6
IMC (kg/m²)	21.4 ± 0.4	27.3 ± 0.4*	31.8 ± 0.4
Glicemia (mg/dL)	82.6 ± 1.8	88.1 ± 2.1	88.1 ± 2.0

Los marcadores de daño a proteína mostraron un incremento en las concentraciones de grupos carbonilo en ambos grupos (sobrepeso 2.58 ± 0.4 nmol asazonas/mg proteína y obesidad 1 2.80 ± 0.44 nmol asazonas/mg proteína) y en comparación al grupo control (1.63 ± 0.34 nmol asazonas/mg proteína) (Figura 1). Un incremento de formazán en el grupo de obesidad 1 (83.5 ± 7.8 nmol formazán/mg de proteína) en comparación con el grupo control (Figura 2).

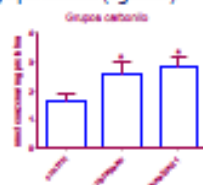


Figura 1

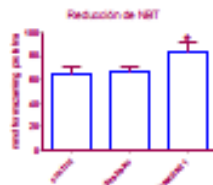


Figura 2

En el análisis electroforético se observó una modificación estructural (formación de polímeros de insulina) en el grupo de obesidad 1 (Figura 3). La evaluación del efecto hipoglucemiante de la insulina oxidada por sangre de pacientes obesos mostró una disminución del 18% en comparación con el grupo control (Figura 4).

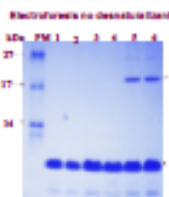


Figura 3

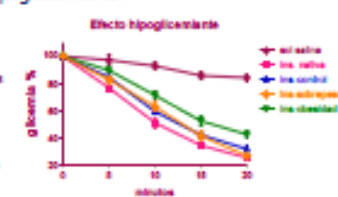


Figura 4

La purificación del polímero de insulina formado (18kDa) (Figura 5) y la evaluación de su efecto hipoglucemiante mostraron una pérdida total de la funcionalidad de la hormona al polimerizarse (Figura 6).

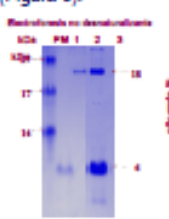


Figura 5

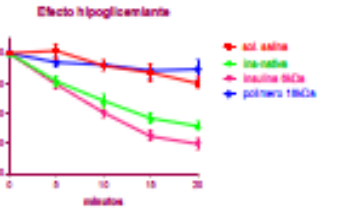


Figura 6

La polimerización de la insulina sugiere un mecanismo de inactivación de la hormona, por lo tanto se implementó un método para detectar la presencia *in vivo* de estos polímeros. Inicialmente se procedió a obtener un anticuerpo policlonal. Interesantemente dicho anticuerpo presentó una especificidad al polímero de insulina (Figura 7).

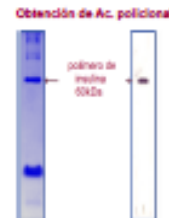


Figura 7

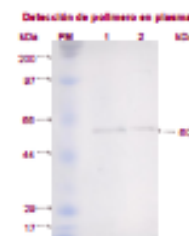


Figura 8

Utilizando muestras de plasma de pacientes obesos y el anticuerpo policlonal acoplado a perlas magnéticas se detectó la presencia de polímeros de insulina en estos pacientes (Figura 8). Estos resultados sugieren la posibilidad de implementar un método de detección de polímeros de insulina que permita valorar el daño a esta molécula y su posible asociación con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en pacientes obesos.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1-The Journal of Medical Investigation. 52, 228-230, 2005.
- 2-Diabetes Care. 31 (Suppl. 2), 185-189, 2008.
- 3-Metabolism Clinical and Experimental. (Epub ahead of print), 2009.





Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.

FUNDADA EN 1957

AV. DIPYSES S/N COL. SAN AGNÉS TOTOLTEPEC,
C. P. 14430 MÉXICO, D. F. (CASA PLATANA)
APARTADO POSTAL 10400
TEL. 5 648-5622-5625
TEL. 0452-8003
<http://smb.org.mx>
Correo electrónico: smb@smb.org.mx

HOSEA DIRECTIVA 2011-2013

PRESDENTE
DR. JESUS AGUIRRE LUNA

VICE-PRESIDENTE
DRA. ALICIA GONZALEZ MANJARRIZ

SECRETARIO TESORERO
DR. EMILIO RUIZ DEL CASTILLO

SUB SECRETARIO TESORERO
DRA. MARIA EUGENIA GONZALEZ
BONAPARTE

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Bertha Arriaga-Luna
Dr. Esteban Delva Cuadrell
Dr. Guillermo Corichi Sandoval
Dr. Joaquín Corichi (†)
Dr. Carlos del Poz Estrada (†)
Dr. Dávila Frank Freund
Dr. Mario García Hernández (†)
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Ramírez Rodríguez
Dr. José Laguna García (†)
Dr. Guillermo Ravello Rodríguez (†)
Dr. Raúl Ordaz Vázquez
Dr. Elvira G. Pardo-Cedeno
Dr. Guillermo Sebastián Acevedo



13th IUBMB Conference,
1st FAEBMB Conference and
3rd Meetings of the
Signal Transduction and
Oxidative Stress
SMB's Branches



Mérida, Yucatán, México
October 22-27, 2011

Organizing Committee
Dr. Fernando López-Casillas
Dr. José Vázquez-Prado
Dr. Teresa Hernández-
Soto-Mayr

www.osn2011.com

México City, October 31st, 2011

Ms. MARIA DE JESUS RINCÓN VIQUEZ
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
BIOQUIMICA
PLAN DE SAN LUIS AND SALVADOR DIAZ MIRON

Email: mjrviquez@hotmail.com

Hereby, we acknowledge your participation in the Cell Signaling Networks Conference (CSN2011) that was held in the City of Mérida, Yucatan, Mexico, from October 22nd to 27th.

Also, to thank you for the presentation of your abstract entitled "Detection of insulin polymers in plasma from obese subjects in oxidative stress" by Rincón-Viquez M.J., Olivares Corichi I.M., Gutiérrez López L., Ceballos Reyes G.M. and García Sanchez J.R.

On behalf of the Organizing Committee,

Dr. Fernando López Casillas
Inst. Fisiología Celular, UNAM
Tel. 5255-5622-5625
email: fcasilla@ifc.unam.mx

Dr. José Vázquez Prado
Pharmacology Dept., CINVESTAV-IPN
Tel: 5255-5747-3380
e-mail: jvazquez@cinvestav.mx

Registration code: 4EB24OQU

ANEXO XXIII: VI Congreso Nacional Estudiantil de Investigación 2011



Lista de trabajos aceptados Modalidad CARTEL

VI Congreso Nacional Estudiantil de Investigación
VI Congreso de Investigación Politécnica
1a Jornada de Prototipos

Clave	Título	Día	Lugar
CSA-C001	IMPLEMENTACIÓN DE UN JUEGO DIDÁCTICO, "EL RIESGO", COMO HERRAMIENTA DE APRENDIZ	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
CSA-C002	LA DEUDA EXTERNA Y SUS REPERCUSIONES EN LA ECONOMÍA MEXICANA EN EL PERIODO COMF	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C001	"enfoque semántico para personalización de rutas",	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C002	MEMBRANAS DE ZEOLITA SOPORTADAS EN TUBOS DE ALÚMINA PARA SEPARACIÓN DE GASES	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C003	MODELADO VIRTUAL Y DESARROLLO DE UN SISTEMA SCADA PARA LA INSPECCIÓN Y RECONOCI	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C004	MODELO VISCOELÁSTICO PARA ATENUACIÓN DE VIBRACIONES EN VEJÍCULOS	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C005	OBTENCIÓN DE PLACAS BIODEGRADABLES DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO REFORZADO CON NA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C006	PUESTA A PUNTO DE ALGORITMO DE COMUNICACIÓN Y MONITOREO DE ROBOTS MÓVILES	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C007	RESULTADOS PRELIMINARES DE LA GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A TRAVÉS DE MICROORGAN	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C008	SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL DE COMPÓSITOS BASE ALUMINIO REFORZA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
FM-C009	SISTEMA PARA LA OBTENCIÓN PERSONALIZADA DEL PESO IDEAL DE	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C001	"Asociación de los polimorfismos 292C>T y 1304G>A del gen SLC38A4 con hiperglucemia"	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C002	BACTERIA NATIVAS DE UN CULTIVO COMERCIAL DE ZARZAMORA COMO POTENCIALES AGENTE	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C003	BIODEGRADACIÓN DE ACRILAMIDA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C004	BIODIVERSIDAD DEL MACROBENTOS DE UNA PLAYA ARENOSA EN LA BAHÍA DE LA PAZ, GOLFO I	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C005	BIOMECAÁNICA DEL APARATO MANDIBULAR COMO UNA APROXIMACIÓN AL DESEMPEÑO Y EL C	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C006	BIOMIMETISMO APLICADO A LA AERONÁUTICA: COMPARACIÓN DE PERFILES ALARES BIOLÓGIC	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C007	CLARIFICACIÓN DEL FLUIDO ENZIMÁTICO DE BROMELIA HEMISPHERICA. EFECTO DE LAS COND	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C008	CLASIFICACIÓN FILOGENÓMICA BASADA EN 21 GENOMAS COMPLETOS DEL GRUPO FUNGI DERI	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C009	CO-LOCALIZACIÓN DEL COMPLEJO PROTEICO ASOCIADO A FLOTILINA EN EL ESPERMATOZOIDE I	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C010	CUANTIFICACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C011	DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DE POLIACRILAMIDA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C012	"DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN PECES CON LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE PLASMAS II	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C013	DESARROLLO DE ALIMENTO BALANCEADO A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR PARA GA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C014	DESARROLLO DE UN SISTEMA DE DETECCIÓN DE CAMBIOS DE TEMPERATURA A PARTIR DE UN T	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C015	DETECCIÓN DE POLÍMEROS DE INSULINA EN PLASMA DE PERSONAS OBESAS CON ESTRÉS OXIDA	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C016	DISEÑO DE BIORREACTORES PARA EL CULTIVO DE NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C017	DISEÑO DE UN MICROARREGLO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS EUCARIOTICOS UTII	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C018	DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE CULTIVOS HIDROPÓNICOS	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C019	DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN HÁBITAT ARTIFICIAL PARA REPTILES SEMIACUÁTICOS	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C020	DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN INVERNADERO ESCOLAR Y SU IMPACTO EN EL CUIDADO DEL M	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones
MB-C021	ECOMORFOLOGÍA DEL APARATO MANDIBULAR DE PECES BATOIDEOS	25 de octubre, 2011	Área de Exposiciones

1 de 3



DETECCIÓN DE POLÍMEROS DE INSULINA EN PLASMA DE PERSONAS OBESAS CON ESTRÉS OXIDATIVO

Gutiérrez L., Olivos J., Rincón M.J., Luna B. y García R.

Escuela Superior de Medicina
 Plan de San Luis esq. Salvador Díaz Mirón s/n, Colonia Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, México,
 Distrito Federal.
 Sección de Estudios de Posgrado e Investigación
 Ciencias de la Salud, Medicina y Sanidad
 Cortes
 dra_lilianagi@yahoo.com.mx

Estudios recientes han demostrado que la incubación *in vitro* de insulina recombinante humana (IRH) en sangre de personas obesas induce polimerización e inactivación de la hormona. Estos eventos han sido asociados con los niveles incrementados de estrés oxidativo encontrados en el plasma de estos pacientes. El objetivo fue detectar polímeros de insulina en el plasma de personas obesas. Mujeres obesas con un IMC de 30-34.9 (obesidad I) y de 20 a 24.9 (normopeso) fueron incluidas en el estudio. Una muestra de sangre venosa periférica de ambos grupos fue obtenida y biomarcadores de estrés oxidativo fueron cuantificados en el plasma. Por otro lado, un anticuerpo policlonal contra polímeros de insulina fue obtenido y acoplado a partículas magnéticas. Partículas magnéticas acopladas al anticuerpo fueron incubadas con el plasma de personas obesas, recuperadas y separadas por electroforesis desnaturante en geles de poliácridamida al 10%. La técnica de Western blot fue empleada para detectar la presencia de polímeros de insulina. Los datos obtenidos demostraron la presencia de niveles incrementados de biomarcadores de estrés oxidativo en personas obesas en comparación con las personas con normopeso. Interesantemente, el anticuerpo contra polímeros de insulina permitió demostrar la presencia de polímeros en el plasma de personas obesas. Estos resultados evidencian por primera la vez la existencia de polímeros de insulina en el plasma de personas obesas, los cuales, fueron asociados con niveles incrementados de biomarcadores de estrés oxidativo en estos pacientes. Además, postulamos que la polimerización e inactivación de la hormona son parte de un mecanismo relacionado con la resistencia a la insulina observada en sujetos obesos y su mayor predisposición a desarrollar diabetes tipo 2.



ANEXO XXIV: Artículo Obesity Facts

Hypocaloric Diet and Regular Moderate Aerobic Exercise Is an Effective Strategy to Reduce Anthropometric Parameters and Oxidative Stress in Obese Patients

Liliana Guiterrez-Lopez^a Jose Ruben Garcia-Sanchez^b Maria de Jesus Ricon-Viquez^b Eleazar Lara-Padilla^b Martha P. Sierra-Vargas^c Ivonne M. Olivares-Corichi^b

^aDepartment of Sport and Informatics, Pablo de Olavide University, Sevilla, Spain, ^bPostgraduate Studies and Research Section, School of Medicine National Polytechnique Institute, ^cDepartment of Biochemistry and Environmental Medicine, National Institute of Respiratory Diseases Ismael Cosío Villegas, México City, Mexico

Key Words

Diet · Exercise · Insulin resistance · Obesity · Weight loss · Free radicals · Oxidative stress · Reactive oxygen species

Abstract

Background: Studies show that diet and exercise are important in the treatment of obesity. The aim of this study was to determine whether, additional regular moderate aerobic exercise during a treatment with hypocaloric diet has a beneficial effect on oxidative stress and molecular damage in the obese patient. **Methods:** Oxidative stress of 16 normal-weight (NW) and 32 obese 1 (O1) subjects (BMI 30–34.9 kg/m²) were established by biomarkers of oxidative stress in plasma. Recombinant human insulin was incubated with blood from NW or O1 subjects, and the molecular damage to the hormone was analyzed. Two groups of treatment, hypocaloric diet (HD) and hypocaloric diet plus regular moderate aerobic exercise (HDMAE), were formed, and their effects in obese subjects were analyzed. **Results:** The data showed the presence of oxidative stress in O1 subjects. Molecular damage and polymerization of insulin was observed more frequently in the blood of O1 subjects. The treatment of O1 subjects with HD decreased the anthropometric parameters as well as oxidative stress and molecular damage; molecular damage was more effectively prevented by the treatment with HDMAE. **Conclusion:** HD and HDMAE treatments decreased anthropometric parameters, oxidative stress, and molecular damage in O1 subjects.

Jose Ruben Garcia Sanchez
Postgraduate Studies and Research Section, School of Medicine National
Polytechnique Institute
Plan de San Luis y Diaz Mirón, Casco de Santo Tomas, 11340 Mexico City
(Mexico)
E-mail: rubeng26@excite.com

Introduction

The incidence of obesity in adults and children is increasing globally. Obesity has previously been considered a problem of developed countries, but this disease also affects the developing countries. In fact, the increasing prevalence of obesity has led the World Health Organization (WHO) to refer to obesity as a 'global epidemic'. Human obesity is associated with the development of complications such as cardiovascular disease, stroke, depression, and type 2 diabetes [1, 2], which are spreading rapidly across poor and middle-income countries. Experimental animal models have confirmed these correlations. Obesity is the most powerful risk factor for the development of type 2 diabetes, and the association between these two disorders appears to be due to the increased circulating levels of tumor necrosis factor- α within obese individuals [3], which contributes to dysregulation of adipocytokines in the accumulated fat and the induction of systemic oxidative stress [4, 5]. Insulin resistance is considered the key primary defect underlying the development of type 2 diabetes, an event that has been frequently associated with the state of inflammation present in the obese patient [6, 7]. However, our *in vitro* studies have shown that oxidative stress can generate structural and functional changes to insulin in blood, suggesting that molecular damage could also contribute to the impairment of the hormone [8] and thereby underlining the importance of oxidative stress in the pathogenesis of obesity and its relationship with the development of type 2 diabetes.

A growing number of studies have shown that diet and exercise are important in the treatment of diseases, including obesity [9–10]. In fact, it could be shown that regular exercise has beneficial impact on the antioxidant capacity, protects against the harmful effects of oxidative stress and prevents cellular damage [11, 12]. Regular moderate aerobic exercise is critical in obesity treatment because it reduces total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and increases high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) [13, 14]. While exercise confers multiple health benefits [15, 16], it is important to establish strategies that improve the antioxidant capacity during the treatment of obese patients. The aim of this study was to determine whether in , regular moderate aerobic exercise during a treatment with hypocaloric diet (HD) has an additional beneficial effect on oxidative stress and molecular damage in the obese patient.

Material and Methods

Patients and Healthy Volunteers

The ethics and research committees from the School of Medicine of the National Polytechnique approved the protocol of this study, and written informed consent was obtained from all participants. The trial was conducted in accordance with the ethical principles originating in the Declaration of Helsinki of 1975 as revised in 1983, and it was consistent with Good Clinical Practice Guidelines. BMI was used to classify the patients. BMI was calculated by dividing a person's weight in kilograms (kg) by the person's height in meters squared (m^2). According to the World Health Organization (WHO), subjects were classified as normal weight (NW) with a BMI of 18.5 to 24.9 kg/m^2 and as obese 1 (O1) with a BMI of 30–34.9 kg/m^2 . 32 O1 patients were randomized to make the following groups: the HD group (N = 16) and the HD plus regular moderate aerobic exercise (HDMAE) group (N = 16). Both were treated for 3 months. As a control group, 16 NW, healthy volunteers were used. Anthropometric measurements were evaluated in each group by the same examiner (table 1). In addition, all participants had to meet the following criteria before enrollment in the study: i) no participation in regular physical activity; ii) no current chronic health problems; iii) no smoking history; iv) no cardiovascular, metabolic or respiratory disease; and v) no consumption of antioxidant supplements (vitamin C, vitamin E, alpha-lipoic acid, beta-carotene, probucol, carvedilol, and iron chelators) or prooxidants (primaquine and iron) within the last 6 months.

KARGER

Blood Samples

A sample of blood (10 ml) was obtained from the antecubital vein of the arm. 3 ml of blood were used to obtain plasma and to determine the biomarkers of oxidative stress damage (TBARS, dityrosines, and carbonyl group). 6 ml of blood were used in the assays for oxidation and structural changes of recombinant human insulin (see below). At the end of HD or HDMAE (3 months), the same amount of blood was obtained, and oxidative stress biomarkers and molecular damage to human recombinant insulin were analyzed again.

Dietary Assessment

Before beginning participation, subjects were with provided dietary education using references such as the Official Mexican Norm for the control and management of obesity. Subjects were encouraged to avoid excessive consumption of high-fat foods, to reduce portion sizes, and to increase daily intake of complex carbohydrates, lean meats, dairy products, fruits, and vegetables.

Nutritional history for each patient was taken, and a personal diet with a 20% caloric restriction was designed for each patient. The caloric restriction was determined according to the Harris Benedict equation using equivalent foods. The equivalent foods were determined using the equivalents list from the American Heart Association of Diet and the Mexican System of Equivalents. The energetic balance of the diet was 50% carbohydrates, 20% proteins, and 30% fat.

Regular Moderate Aerobic Exercise

The heart rate required during regular moderate aerobic exercise for each patient was determined by the formula 220 minus age multiplied by 60 or 70%. Patients were provided with a treadmill for exercise training. They were encouraged to exercise for 30 min 3 times a week for a period of 3 months. Patients assigned to the group without physical activity continued their sedentary lifestyle.

Plasma Biomarkers of Oxidative Stress Damage

To measure the amount of lipid oxidative products and chemically modified proteins formed by oxidative injury in plasma, 3 ml samples of blood from the groups were utilized. Plasma was obtained by centrifugation at 1,400 g for 15 min and utilized for numerous assays: i) Circulating lipid damage was analyzed using thiobarbituric acid-reacting products (TBARS) [18]. Aliquots of 100 μ l were utilized to measure the absorbance at 529 nm. 1,1,3,3-tetramethoxypropane (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was used as a standard. ii) The capacity of proteins to react with nitroblue tetrazolium (NBT) producing formazan was utilized as an indirect means of analyzing proteins modified by oxidative stress. The reaction was carried out with 10 μ l of plasma, and the absorbance was measured at 530 nm to detect the formazan [19]. The molar extinction coefficient for formazan, $E = 15 \text{ mmol/l/cm}$, was utilized to calculate its concentration. iii) Tyrosine dimers (dityrosine) were determined by measuring fluorescence at excitation and emission wavelengths of 325 and 410 nm, respectively, from an aliquot of 100 μ l of plasma [20]. The final concentration of dityrosine is reported as relative fluorescence units (RFU). iv) Free carbonyl groups were measured utilizing aliquots of 100 μ l of plasma and 1 ml of 10 mmol/l 2,4-diphenylhydrazine (DNPH) [21]. The absorbance was measured at 370 nm to detect the formation of dinitrophenylhydrazones. The molar extinction coefficient for DPNH ($E = 22,000 \text{ M/cm}$) was utilized to calculate the carbonyl concentration. v) Total protein was measured as a reference parameter by the Lowry method [22].

Determination of Oxidation and Structural Changes of Insulin

Recombinant human insulin (Lilly Laboratories Mexico City, Mexico) which is also called 'native insulin' in this study, was exposed to NW and O1 blood as previously described [8]. Briefly, 30 IU (1.5 mg) of native insulin was introduced into a 5-cm portion of membrane dialysis tubing with a cutoff of 3,500 Da (Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Dominguez, CA, USA). The dialyzing tubes were incubated at 37 °C in 6 ml of blood (from NW or O1) for 3 h. After incubation, the bags containing insulin were washed with distilled water. 5 IU (250 μ g) of insulin were used to determine the levels of formazan and carbonyls; these determinations were performed with the same procedures indicated above. Blood effects from NW and O1 on insulin structure were analyzed by nondenaturing polyacrylamide gels. After insulin incubation in blood from obese patients, 5 μ l (90 μ g) of insulin was diluted with an equal volume of 2 \times sample buffer (50 mmol/l TrisHCl, pH 6.8, 20 % glycerol and 0.04 % bromophenol blue) before loading onto 15% nondenaturing polyacrylamide gels. Coomassie blue staining of polyacrylamide gels was performed to assess any changes in the electrophoretic pattern.

Statistical Analysis

Mean \pm SD values were calculated for all variables. Intragroup comparison was performed with t-parade. The intergroup comparison was performed with t-student tests. A probability value \pm 0.05 was considered statistically significant.

Results**Subjects**

32 O1 patients and 16 NW subjects participated in this study. The characteristics of these subjects are included in [table 1](#).

Oxidative Stress Biomarkers in Plasma

Oxidative stress status of the study groups was evaluated by determining the values of several biomarkers of oxidative stress in plasma. [Table 2](#) shows the values of oxidative stress biomarkers detected in plasma of the groups in study. The data obtained indicated the presence of higher levels of oxidation biomarkers in O1 patients. The lipid damage in the O1 group was higher than in NW group (6.5 ± 1.8 and 4.8 ± 2.6 $\mu\text{mol/l}$, respectively, $p < 0.0001$); in addition, biomarkers related to protein damage (carbonyl group and dityrosine) were also higher in the O1 than in the NW group ([table 2](#)). These results showed the presence of oxidative stress in the plasma of O1 patients.

Insulin Oxidation by Blood from O1 Patients

The determination of the oxidation biomarkers in the insulin showed that the carbonyl group content was higher after incubation in blood from O1 subjects (3.4 ± 0.3 nmol osazone / mg protein) than in blood from NW subjects (1.6 ± 0.3 osazone / mg protein) ([fig. 1A](#); $p < 0.001$). A similar behavior was observed with formazan, showing higher values after incubation with blood from O1 subjects (82.9 ± 6.2 nmol formazan / mg protein) than with that from NW subjects (65.5 ± 4.9 nmol formazan / mg protein) ([fig. 1A](#); $p < 0.001$). These results suggest that blood from O1 subjects, unlike that from NW subjects, had the capacity to modify insulin. Because the system involved incubation of insulin in blood, there is the possibility that the iron liberated from hemoglobin through hemolysis could exert an oxidative effect on insulin. However, we excluded this possibility by verifying the absence of hemolysis in our samples. To this end, we quantified the levels of free iron in plasma before and after the incubation period; no differences were detected when intergroup comparisons were performed (data not shown).

Because the data regarding oxidative markers in insulin suggested that there might be structural changes in the hormone after its incubation with O1 blood, we analyzed whether these chemical modifications could be observed as changes in the electrophoretic pattern of the hormone. After insulin incubation with blood from O1 subjects, 90 μg of the hormone was loaded onto 15% nondenaturing polyacrylamide gels and separated by electrophoresis. Coomassie blue staining of the polyacrylamide gel was performed to assess any changes in the electrophoretic pattern that might indicate molecular damage to insulin. [Fig. 1B](#) illustrates a representative polyacrylamide gel showing the electrophoretic pattern obtained: lane 1 shows native insulin, lane 2 shows insulin incubated in water, lanes 3 and 4 show insulin incubated in blood from NW subjects, and lanes 5 and 6 show insulin incubated in blood from O1 subjects. A band of approximately 6 kDa was present in all samples; this is consistent with the reported molecular mass of approximately 6 kDa for insulin. Importantly, insulin samples incubated in blood from O1 patients showed a band with a molecular mass of 18 kDa ([fig. 1B](#), lanes 5 and 6), demonstrating the presence of structural changes in the hormone.

KARGER

Effects of HD and Exercise

The effects of HD and HDMAE on obese patients were analyzed. Table 3 shows anthropometric parameters before and after the treatments; importantly, all parameters significantly decreased after the treatments ($p < 0.01$). However, when oxidative stress biomarkers in plasma were analyzed, we observed that the subjects in HD treatment showed a decrease in TBARS values ($3.42 \pm 0.5 \mu\text{mol/l}$). The values of this marker decreased to values lower than that in NW subjects ($4.82 \pm 0.6 \mu\text{mol/l}$) (table 4). A similar effect of this biomarker was observed in the HDMAE group. These results suggest that the changes observed were generated by HD treatment and that the exercise did not have any additional effect. When dityrosine values were analyzed, the data showed a decrease in the HD group; however, the values did not reach those of NW subjects (table 4). In fact, an increase in this biomarker was observed in O1 patients after HDMAE treatment (table 4). Interestingly, carbonyl values were modified by both treatments, reaching values similar to those detected in NW subjects (table 4).

Insulin Oxidation after Treatments

Because oxidative stress biomarkers decreased in the blood of obese patients after the treatments, we evaluated whether these changes could be related to a decrease in the molecular damage detected in insulin (fig. 1). Recombinant human insulin was incubated in the blood from O1 patients obtained after the treatments, and the biomarkers of oxidation in the hormone were analyzed. Fig. 2A shows the values of carbonyl and formazan products detected in insulin. The generation of carbonyl groups by blood from O1 patients decreased by 46% after HD treatment (before 3.5 ± 0.23 , after $1.88 \pm 0.37 \text{ nmol osazone / mg protein}$). Interestingly, a greater effect was observed in subjects treated with HDMAE (59%) (before 3.38 ± 0.72 , after $1.43 \pm 0.38 \text{ nmol osazone / mg protein}$). However, the decreased generation of formazan products was only statistically significant with blood from O1 subjects treated with HDMAE (before 75.4 ± 6.1 , after $54 \pm 3.1 \text{ nmol formazan / mg protein}$) (fig. 2A). These data suggest that both treatments decreased the capacity of blood to induce molecular damage. Because the incubation of recombinant human insulin in blood from O1 subjects induced the formation of a polymer of insulin (fig. 1B, lanes 5 and 6), we investigated whether HD or HDMAE treatments could prevent these effects. Recombinant human insulin was incubated in blood from O1 subjects obtained after treatment, and the electrophoretic pattern of the hormone was analyzed by electrophoresis. Fig. 2B illustrates a representative polyacrylamide gel showing the electrophoretic pattern obtained: lane 1 shows insulin incubated in blood from an O1 subject before treatment, and lane 2 shows insulin incubated in blood from an O1 subject after treatments. A band of approximately 6 kDa was present in all samples (insulin); however, the band of the polymer of insulin (18 kDa) which was generated by blood samples from O1 subjects before treatment (fig. 2B, lane 1), decreased or, in some cases, even vanished after incubation with blood from O1 subjects after treatment (fig. 2B, lane 2). These results suggest that the decrease in the biomarker values of oxidative stress in plasma is associated with a lower capacity of plasma to generate molecular damage.

Discussion

Although much research has been conducted to investigate the relationship between obesity and oxidative stress, most of the current obesity studies have not been aimed to prevent systemic oxidative stress in obese patients. In the present study, our data demonstrate that HD treatment (with 20% caloric restriction) helped obese patients to decrease anthropometric parameter values and weight. Interestingly, the effects generated by HD treatment were accompanied by a decrease in oxidative stress biomarkers in plasma, an observation that supports earlier

results showing an effect of diet and macronutrient intake on oxidative stress and inflammation [10].

This observation has important implications, because lower oxidative damage to proteins such as LDL-C and insulin or the prevention of pathologic processes in which oxidative stress plays an important role (atherosclerosis) should be considered in managing obesity. It is important to mention that HD treatment generated important beneficial changes in obese patients. However, the inclusion of exercise of moderate intensity in the treatment induced an adaptation in the antioxidant capacity and in consequence a greater resistance to oxidative damage [23, 24]. In this context, the data showed that the weight loss induced by HD treatment had a significant effect on TBARS, which is one of the most frequently used indicators of lipid peroxidation [25]. This result is in agreement with the finding of Crujeiras et al. [26], who observed a marked decrease in malondialdehyde with HD in obese patients. Because high levels of lipid peroxidation has been associated with a greater risk for developing heart diseases [27, 28], the reduction of TBARS levels in obese patients by HD treatment would also be a significant advantage in the management of obesity.

Thus, in this study we provide evidence that HD treatment generates significant beneficial effects in obese patients with respect to loss of body weight and anthropometric parameters. When combining HD treatment with regular moderate aerobic exercise (HMAE), an additional benefit with respect to oxidative stress resistance could be achieved, resulting in a reduction of the blood's capacity to induce a molecular damage, which is in accordance with earlier reports that indicate that aerobic exercise of moderate intensity generates an increasing resistance to oxidative stress [29, 30]. Thus, HMAE treatment (even after a short time period of 3 months) could generate a better level of health in obese patients than HD alone. The weight loss observed with HMAE treatment was accompanied by a fat mass loss and a decrease in oxidative stress biomarkers, which is associated with the lower capacity of the blood of these patients to induce molecular damage. These findings are in line with those showing that excess fat is involved in the generation of oxidative stress [31]. Even if it has been suggested that physical exercise rather than an energy-restricted diet could be recommended as an essential method for body weight reduction [32, 33], in this work we showed that the protective benefit generated by HD treatment could be reinforced by regular moderate aerobic exercise. This benefit could be related to an induction of antioxidant enzymes. Although these enzymes were not measured, elevation of enzyme activity might have occurred as has been reported by de Lemos et al. [34] and Radák et al. [24]. This clearly shows that physical activity has benefits for obese patients. On the other hand, there is some evidence that intensive workout resulting in oxidative stress leads to skeletal muscle injury caused by the generation of reactive oxygen species [35, 36]. Therefore, estimating the risk of oxidative stress induced by exercise seems to be important for planning the intensity of physical activity in obese patients. We therefore propose to check the oxidative stress resistance after a first 3-month cycle of HMAE prior to an enhancement in the intensity of exercise. As shown in this study, such a short cycle of HMAE results in an increase of the serum antioxidant capacity, allowing a faster adaptation of obese patients to intensive exercise-induced oxidative stress by attenuating the degree of change and by reducing the frequency of adverse effects during the treatment. Moreover, in individuals who are particularly susceptible to exercise-induced oxidative stress or in whom intensive exercise is not advisable because of a low efficiency of their cardiovascular system and a high incidence of hypertension, this treatment could be an alternative approach.

Disclosure Statement

The authors declared no conflicts of interest.

KARGER

References

- McGill HC Jr, McMahan A, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP: Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation* 2002;105:2696–2698.
- Reaven GM: All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals. *Diab Vasc Dis Res* 2005;2:105–112.
- Tilg H, Moschen AR: Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med* 2008;14:222–231.
- Ghanim H, Aljada A, Daoud N, Deopurkar R, Chaudhuri A, Dandona P: Role of inflammatory mediators in the suppression of insulin receptor phosphorylation in circulating mononuclear cells of obese subjects. *Diabetologia* 2007;50:278–285.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I: Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004;114:1752–1761.
- García-Baillo B, El-Sohemy A, Haddad PS, Arora P, Benzafet F, Karmali M, Badawi A: Vitamins D, C, and E in the prevention of type 2 diabetes mellitus: modulation of inflammation and oxidative stress. *Biologics* 2011;5:7–19.
- Ernst MC, Sinal CJ: Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21:660–667.
- Montes-Cortes DH, Hicks JJ, Ceballos-Reyes GM, García-Sánchez JR, Medina-Navarro R, Olivares-Corichi IM: Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation with blood from diabetic patients in oxidative stress. *Metabolism Clinical and Experimental* 2010;59:935–942.
- Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C, White RD: Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006;29:1433–1438.
- Dandona P, Ghanim H, Chaudhuri A, Dhindsa S, Kim SS: Macronutrient intake induces oxidative and inflammatory stress: potential relevance to atherosclerosis and insulin resistance. *Exp Mol Med* 2010;30:42:245–53.
- Lwow F, Dunajska K, Milewicz A, Jedrzejuk D, Kik K, Szmiągiero L: Effect of moderate-intensity exercise on oxidative stress indices in metabolically healthy obese and metabolically unhealthy obese phenotypes in postmenopausal women: a pilot study. *Menopause* 2011;18:646–653.
- Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F: Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovasc Diabetol* 2011;10:12.
- Vincent KR, Vincent HK, Braith RW, Lennon SL, Lowenthal DT: Resistance exercise training attenuates exercise-induced lipid peroxidation in the elderly. *Eur J Appl Physiol* 2002;87:416–423.
- Kelley GA, Kelley KS, Tran ZV: Aerobic exercise and lipids and lipoproteins in women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Womens Health (Larchmt)* 2004;13:1148–1164.
- Vincent KR, Vincent HK, Braith RW, Bhatnagar V, Lowenthal DT: Strength training and hemodynamic responses to exercise. *Am J Geriatr Cardiol* 2003;12:97–106.
- Castaneda C, Layne JE, Munoz-Orians L, Gordon PL, Walmsmith J, Foldvari M, Roubenoff R, Tucker KL, Nelson ME: A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002;25:2335–2341.
- Uzun H, Konukoglu D, Gelsigen R, Zengin K, Taskin M: Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2007;17:1367–1373.
- Yagi K: Sample procedure for specific assay of lipid hydroperoxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol* 1998;108:107–110.
- Gieseg SP, Simpson JA, Charlton TS, Duncan MW, Dean RT: Protein-bound 3,4 dihydroxyphenylalanine is a major reductant formed during hydroxyl radical damage to proteins. *Biochemistry* 1993;32:4780–4786.
- Lehrer SS, Pasman GD: Ultraviolet irradiation effects in poly-L-tyrosine and Model Compounds. Identification of Bityrosine as a Photoproduct. *Biochemistry* 1967;6(3):757–767.
- Reznick AZ, Packer L: Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994;233:357–363.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265–275.

- 23 Falone S, Mirabilio A, Pennelli A, Cacchio M, Di Baldassarre A, Gallina S, Passerini A, Amicarelli F: Differential impact of acute bout of exercise on redox- and oxidative damage-related profiles between untrained subjects and amateur runners. *Physiol Res* 2010;59:953-961.
- 24 Radák Z, Chung HY, Goto S: Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med* 2008;44:153-159.
- 25 Nielsen F, Mikkelsen B. B., Andersen HR & Grandjean P: Plasma Malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life style factor. *Clin Chem* 1997;43:1209-1214.
- 26 Crujeiras AB, Parra D, Abete I, Martínez JA: A hypocaloric diet enriched in legumes specifically mitigates lipid peroxidation in obese subjects. *Free Radic Res* 2007;41:498-506.
- 27 Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, Chapple S, Cohen G, Feher J, Grune T, Lengyel G, Mann GE, Pamplona R, Poli G, Portero-Otin M, Riahi Y, Salvayre R, Sasson S, Serrano J, Shamni O, Stems W, Slow RC, Wiswedel I, Zarkovic K, Zarkovic N: Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 2010;44:1125-1171.
- 28 Fraley AE, Tsimikas S: Clinical applications of circulating oxidized low-density lipoprotein biomarkers in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006;17:502-509.
- 29 Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT: Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2002;30:280-285.
- 30 Lwow F, Dunajska K, Milewicz A, Jedrzejuk D, Kik K, Szmigiero L: Effect of moderate-intensity exercise on oxidative stress indices in metabolically healthy obese and metabolically unhealthy obese phenotypes in postmenopausal women: a pilot study. *Menopause* 2011;18:646-653.
- 31 Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I: Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004;114:1752-1761.
- 32 Wildman RP: Healthy obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;12:438-443.
- 33 Perseghin G: Is a nutritional therapeutic approach unsuitable for metabolically healthy but obese women? *Diabetologia* 2008;51:1567-1569.
- 34 de Lemos ET, Reis F, Baptista S, Garrido AP, Pinto R, Sepodes B, Vaia H, Rocha-Pereira P, Silva AS, Teixeira F: Efeitos do exercício físico aeróbio no perfil metabólico e oxidativo de ratos diabéticos tipo 2. *Bull SPHM* 2007;22:16-28.
- 35 Alessio HM: Oxidative stress and muscle size, type and action; in Alessio HM, Hagerman AE (eds): *Oxidative Stress, Exercise and Aging*. London, Imperial College Press, 2006, pp 25-57.
- 36 Powers SK, Malcom JJ: Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008;88:1243-1276.

Fig. 1. Chemical and structural changes of insulin after incubation with blood from obese patients. **A** Higher values of carbonyl groups and formazan were generated in the insulin molecule incubated with blood from O1 subjects. Data are expressed as means \pm SD and analyzed by t students (* $p < 0.001$). **B** Coomassie blue-stained nondenaturing polyacrylamide (15 %) gel of insulins incubated in blood. Lane 1 native insulin, lane 2 insulin incubated in water, lanes 3 and 4 insulin incubated in blood from NW, lane 5 and 6 insulin incubated in blood from O1 subjects. The arrow indicates an insulin polymer with an apparent molecular mass of 18 kDa. Notice that this band is only present in insulin incubated in blood from O1 patients. Molecular weight (MW) and molecular masses of the markers (kDa) are given on the left side of panel.

Fig. 2. Insulin modifications after incubation in blood from obese subjects with HD and HDMAE treatments. **A** Lower values of carbonyl groups and formazan products were generated by blood from obese patients after HD and HDMAE treatments (90 days). Data are expressed as means \pm SD and analyzed by t parade (* $p < 0.003$). **B** Coomassie blue-stained nondenaturing polyacrylamide (15 %) gel of insulins incubated in blood from an obese subject. Lanes 1, insulin incubated in blood from O1 patients. The arrow indicates the insulin polymer (18 kDa). Lanes 2, insulin incubated in blood from an O1 patient after HD and HDMAE treatments. Notice that the insulin polymer was decreased in both bloods; however, insulin polymer generation was lower in blood from O1 patients treated with HDMAE.

Table 1. Anthropometric parameters of the groups in study^a

Anthropometric parameters	Normal weight (N = 16)	Obese 1 (N = 32)
Weight, kg	54.70 \pm 1.70	84.27 \pm 14.0 *
BMI, kg/m ²	21.40 \pm 0.40	33.16 \pm 3.90 *
Body fat, %	22.0 \pm 3.22	40.78 \pm 4.73 *
Waist circumference, cm	79.0 \pm 4.52	98.72 \pm 9.83 *
Hip circumference, cm	93.0 \pm 3.71	113.92 \pm 9.30 *
Waist-to-hip ratio	0.83 \pm 0.03	0.86 \pm 0.07 *
Age, years	25.60 \pm 1.40	42.36 \pm 11.40
Height, m	1.57 \pm 0.05	1.58 \pm 0.71

^aData are expressed as means \pm SD, analyzed by t student.

* $p < 0.0001$.

Table 2. Plasmatic concentration of biomarkers in the groups of study^a

Biomarker	Normal weight (N = 16)	Obese 1 (N = 32)
TBARS, μ mol/l	4.82 \pm 2.60	6.50 \pm 1.80 *
Carbonyl, nmol osazone / mg protein	0.71 \pm 0.10	1.40 \pm 0.30 *
DT, URF / mg protein	94.18 \pm 9.90	148.50 \pm 3.10 *

^aData are expressed as means \pm SD, analyzed by t student.

* $p < 0.0001$.

Table 3. Anthropometric parameters

Anthropometric parameters	HD (N = 16)		HDMAE (N = 16)	
	0 days	90 days	0 days	90 days
Weight, kg	87.44 ± 16.30	80.83 ± 12.36*	80.46 ± 8.55	77.41 ± 8.69*
BMI, kg/m ²	33.58 ± 4.51	31.25 ± 3.95*	32.67 ± 2.83	31.43 ± 3.0*
Body fat, %	40.82 ± 4.98	37.70 ± 5.62*	40.73 ± 4.23	39.21 ± 4.18*
Waist circumference, cm	100.72 ± 11.33	92.86 ± 9.40*	96.33 ± 6.44	90.23 ± 6.76*
Hip circumference, cm	113.40 ± 9.90	107.86 ± 8.58*	114.55 ± 8.30	108.26 ± 7.99*
Waist-to-hip ratio	0.88 ± 0.07	0.85 ± 0.06*	0.84 ± 0.06	0.80 ± 0.08*

Data are expressed as mean SD, analyzed by group with *t* parade **p* < 0.01.**Table 4.** Values detected in plasma of MDA, dityrosines and carbonyl groups after HD and HDMAE treatments*

Biomarker	NW (N=16)	HD (N=16)		HDMAE (N=16)	
		0 days	90 days	0 days	90 days
TBARS, μmol/l	4.82 ± 0.60	6.50 ± 0.90	3.42 ± 0.50*	6.50 ± 0.50	3.48 ± 0.70*
DT, URF / mg protein	94.18 ± 3.10	133.50 ± 13.80	110.70 ± 5.10*	132.70 ± 5.90	151.90 ± 19.58
Carbonyl, nmol osazone / mg protein	0.71 ± 0.10	1.68 ± 0.20	0.76 ± 0.03*	2.47 ± 0.40	0.68 ± 0.06*

*Data are expressed as means ± SD analyzed by *t* student for group. 0 vs. 90 days.**p* < 0.01

Obesity facts**Author(s):** European Association for the Study of Obesity.

Deutsche Adipositas-Gesellschaft.

NLM Title Abbreviation: Obes Facts**ISO Abbreviation:** Obes Facts**Title(s):** Obesity facts.**Publication Start Year:** 2008**Frequency:** Six no. a year**Country of Publication:** Switzerland**Publisher:** Basel : Karger**Language:** English**ISSN:** 1662-4025 (Print)

1662-4033 (Electronic)

1662-4025 (Linking)

Acid-Free: No**LCCN:** 2010243053**Electronic Links:** www.karger.com/ofa**Fully Indexed In:** Index medicus v1n1, 2008-
MEDLINE v1n1, 2008-**Indexed In:** PubMed v1n1, 2008-**Current Indexing Status:** Currently indexed for MEDLINE.**Current Subset:** Index Medicus**Version Indexed:** Electronic**MeSH:** Obesity***Publication Type(s):** Periodicals**Notes:** Description based on: Vol. 1, no. 2 (Apr. 2008).

Latest issue consulted: Vol. 1, no. 2 (Apr. 2008).

Also issued online.

NLM ID: [101469429](#) [Serial]

Home

Journal Rankings

Journal Search

Country Rankings

Country Search

Compare

Map Generator

Help

About Us

Journal Search

Search query

 in **Journal Title**
☐ Exact phrase

Obesity Facts

Country: [Switzerland](#)Subject Area: [Social Sciences](#)Subject Category: [Health \(social science\)](#) **Q1**Publisher: [Karger AG](#). Publication type: Journals. ISSN: 16624025, 16624033

Coverage: 2008-2011

H Index: 9

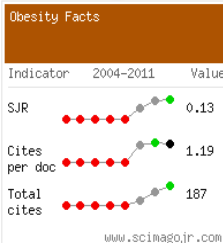
Scope:

"Obesity Facts" publishes articles covering all aspects of obesity, in particular epidemiology, etiology and pathogenesis, treatment, and the prevention of [...]

[Show full scope](#)

Charts

Data

Show this information in
your own website

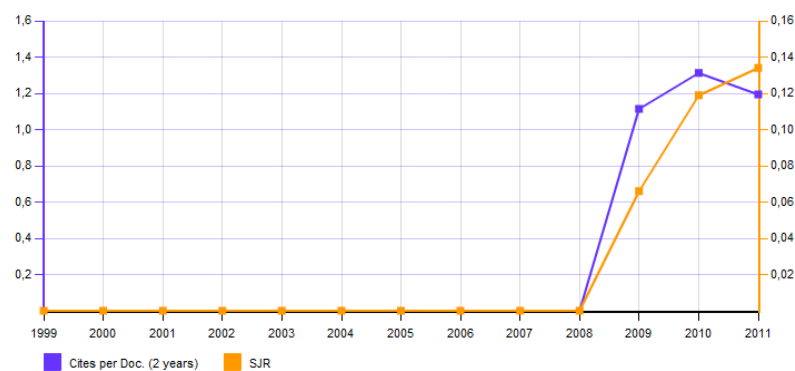
How to cite this website?

SJR is developed by:

SCIMAGO
L A B

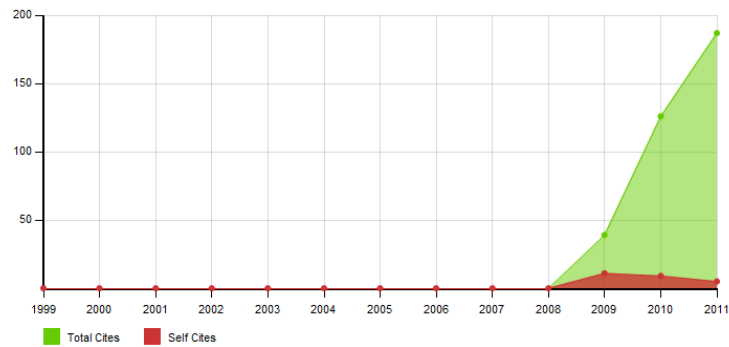
 Powered by
SCOPUS™

SJR indicator vs. Cites per Doc (2y)



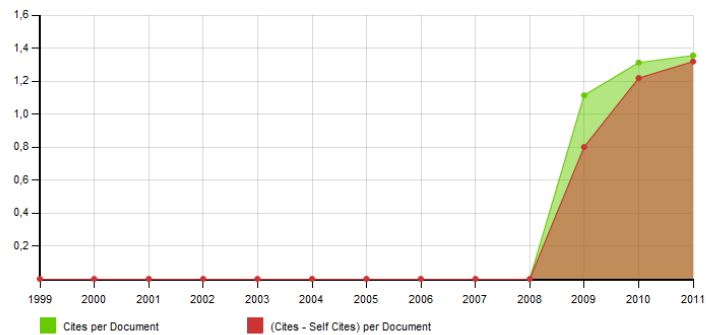
The SJR indicator measures the scientific influence of the average article in a journal, it expresses how central to the global scientific discussion an average article of the journal is. Cites per Doc. (2y) measures the scientific impact of an average article published in the journal, it is computed using the same formula that journal impact factor™ (Thomson Reuters).

Citation vs. Self-Citation



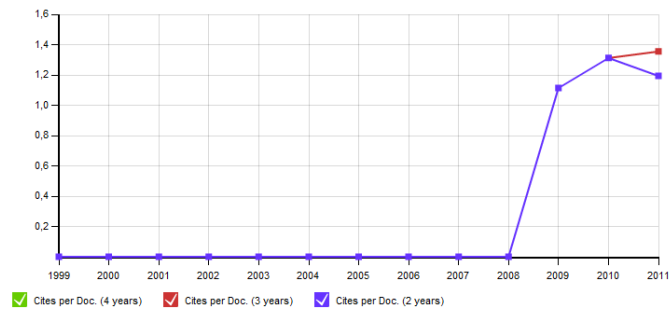
Evolution of the total number of citations and journal's self-citations received by a journal's published documents during the three previous years.

Cites per Document vs. External Cites per Document



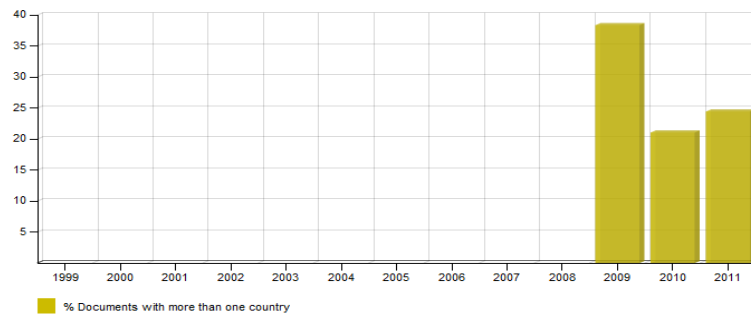
Evolution of the number of total cites per document and external cites per document (i.e. journal self-citations removed) received by a journal's published documents during the three previous years.

Cites per Document in 2, 3 and 4 years windows



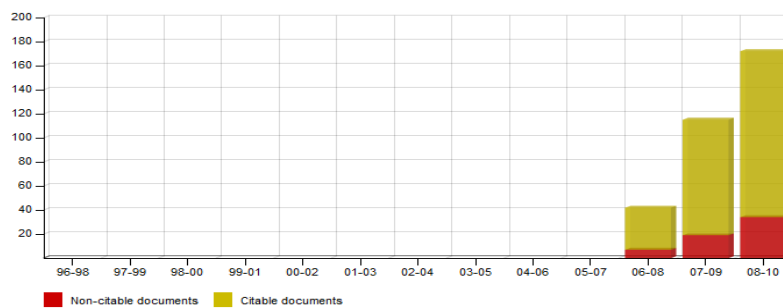
Evolution of Citations per Document to a journal's published documents during the two, three and four previous years. The two years line is equivalent to journal impact factor m (Thomson Reuters) metric.

International Collaboration



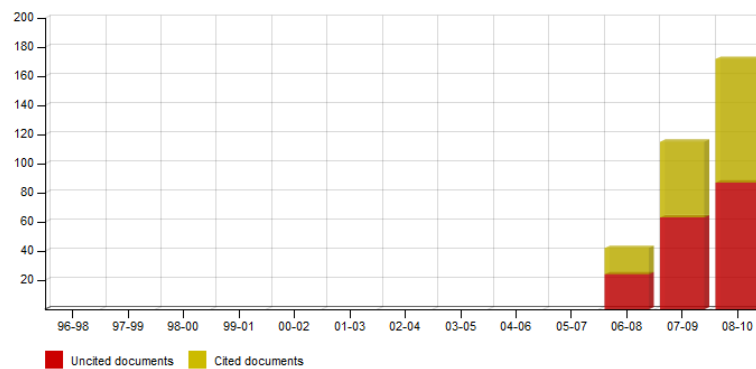
International Collaboration accounts for the articles that have been produced by researchers from several countries. The chart shows the ratio of a journal's documents signed by researchers from more than one country.

Journal's Citable vs. Non Citable Documents



Not every article in a journal is considered primary research and therefore "citable", this chart shows the ratio of a journal's articles including substantial research (research articles, conference papers and reviews) in three year windows.

Journal's Cited vs. Uncited Documents



Ratio of a journal's items, grouped in three years windows, that have been cited at least once vs. those not cited during the following year.

ANEXO XXV: Artículo Horm Metab Res

748
Original Basic

Oxidative Stress Present in the Blood from Obese Patients Modifies the Structure and Function of Insulin

Authors
I. M. Olveres-Corichi, M. J. Rincon Viquez, L. Gutierrez-Lopez, G. M. Ceballos-Rayas, J. R. Garcia-Sanchez

Affiliation
Postgraduate Studies and Research Section, School of Medicine National Polytechnique Institute, Mexico Distrito Federal, Mexico

Key words
○ obesity
○ free radicals
○ reactive oxygen species

Abstract
▼

Obesity and its associated disorders constitute a growing epidemic across the world. Numerous studies have demonstrated the presence of systemic oxidative stress in patients with obesity. In this study, we show the effects of oxidative stress present in the blood from obese patients on recombinant human insulin. Insulin was incubated with whole blood (WB) from overweight subjects (OW), obese I patients (O1), or normal weight volunteers (NW) (n=16 for each group). Whole blood from OW and O1, unlike WB from NW, increased the carbonyl content of insulin; however, only whole blood from O1 patients increased the amount of formazan present in the hormone. Interestingly, the incubation of insulin with WB from O1 provoked a decrease in the hypoglycemic activity of the hormone (18%), an effect due to insulin polymerization. In addition, we showed that the formation of the insulin polymer generated the formation of new epitopes and the development of a new immunogenicity. These observations show that oxidative stress present in the WB of O1 patients can result in abolition of the biological activity of insulin and contribute to the development of an immune response to the hormone.

Introduction
▼

Obesity is considered a problem of developed countries; however, the disease also affects developing countries. In fact, the high incidence of obesity in both adults and children in such countries has recently led the World Health Organization (WHO) to label obesity as a "global epidemic". Human obesity is associated with the presence of systemic oxidative stress, which is caused by a dysregulation in the production of adipocytokines by accumulated fat [1]. High levels of adipocytokines, such as TNF- α , adiponectin, and IL-6 stimulate the production of reactive oxygen species (ROS) generate an imbalance between ROS and antioxidant defenses and the development of systemic oxidative stress [2,3]. Importantly, the accumulated fat and systemic oxidative stress can not only co-exist but also increase one another, favoring oxidative damage. Although oxidative stress has been studied in obese patients, there has been little investigation of oxidative stress-induced molecular damage to specific biological molecules [4,5]. In fact, the presence of oxidative damage is related to cleavage of lipids, protein oxidation [6,7], and the development of various complications in the obese patient, such as the metabolic syndrome [8,9], cardiovascular disease, stroke, and type 2 diabetes [10,11]. Recent studies have shown that tissues from obese patients become resistant to the action of insulin, causing increases in the levels of glucose and insulin. The presence of hyperglycemia in obese patients is another factor that contributes to systemic oxidative stress because high glucose levels stimulate mitochondrial ROS overproduction and activate enzymes related to ROS production, such as nitric oxide synthase, xanthine oxidase, aldose reductase, and enzymes of the polyol pathway [12]. Recently, we have developed an in vitro system that allows us to study the effects of oxidative stress present in the blood on proteins [13]. In the present study, we show the metabolic state of oxidative stress present in blood from overweight and obese patients by using biomarkers that indicate oxidative damage in plasma. Human insulin was incubated with blood from these patients, and biomarkers of damage to the hormone were analyzed; these demonstrated changes in insulin structure. Interestingly, electrophoretic analysis of these insulins showed a polymerization of the

received 05.04.2011
accepted 12.07.2011

Bibliography
DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1286305>
Horm Metab Res 2011;
43: 748–753
© Georg Thieme Verlag KG
Stuttgart · New York
ISSN 0018-5043

Correspondence
J. R. Garcia-Sanchez
Postgraduate Studies and
Research Section
School of Medicine National
Polytechnique Institute
Plan de San Luis y Diaz Mirón
Casco de Santo Tomas
11340 Mexico Distrito Federal
Mexico
Tel.: +55/57/296 300
ext. 62820
Fax: +55/57/296 300
rubeng26@excite.com

Olveres-Corichi IM et al. Oxidative Stress Modifies Insulin... Horm Metab Res 2011; 43: 748–753

hormone. Finally, we investigated whether these chemical modifications and the resulting polymer formation abolish insulin's biological activity and contribute to the development of an immune response to the hormone.

Materials and Methods

Patients and healthy volunteers

The protocol was approved by the human, animal ethics, and research committees at the School of Medicine of the National Polytechnic Institute, Mexico Distrito Federal. All patients involved signed an informed consent waiver. The trial was conducted in accordance with the ethical principles laid out in the 1975 Declaration of Helsinki (as revised in 1983), and it was consistent with Good Clinical Practice Guidelines. A calculation of minimum sample size needed was performed using the equation $n = 2 \left[\left(\frac{Z_{\alpha} - Z_{\beta}}{d} \right)^2 \right] / (S^2/d^2)$, for studies on the means of 2 groups, where the reference parameter was the protein carbonyl in units of nmol/mg protein [14], n =Number of patients, Z_{α} =95%, Z_{β} =80%, S = \pm SD=0.2, and d =0.3; therefore, $n = 2 \left[\left(\frac{1.96 - 0.84}{0.3} \right)^2 \right] / (0.21)^2$. These calculation resulted in a value of $n=8$; however, we assayed 16 samples from each of the overweight, obese 1, and normal weight groups. Obese patients were classified according to the WHO parameters using body mass index (BMI). According to the WHO, subjects were classified as normal weight (NW) BMI of 18.5–24.9 kg/m², overweight (OW) of 25–29.9 kg/m², and obese 1 (O1) of 30–34.9 kg/m². Vital signs and anthropometric measurements were evaluated in each group. The following patients were excluded from the study: 1) diabetic or hypothyroid patients, 2) patients taking antioxidants (vitamin C, vitamin E, alpha-lipoic acid, beta-carotene, probucol, carvedilol, or iron chelators) or pro-oxidants (primaquine or iron) within the last 6 months, and 3) patients with infections or hypertension.

Blood samples

10 ml of peripheral venous blood were collected using a heparinized syringe. The blood was transferred to an assay tube containing 86 USP of sodium heparin. An aliquot of 10 μ l was taken to determine the basal level of glucose using a glucose analyzer (Abbott Laboratories Inc., MediSense Products, Bedford, MA, USA).

Plasma biomarkers of oxidative stress damage

To evaluate the oxidative stress status of NW, OW, and O1 patients, several biomarkers of oxidative stress were analyzed in the plasma from these subjects. Levels of lipidic oxidative products and chemically modified proteins, which result from oxidative damage, were measured in the plasma samples. 2 ml of plasma from each NW, OW, or O1 patient were obtained by centrifuging 4 ml of blood at 1400 \times g for 15 min; this plasma was used for assays 1–4, which are detailed below: 1) The concentration of thiobarbituric acid reacting substances (TBARS), reflecting plasma lipid peroxidation products, was determined by the Yagi's method [15]. 2) The capacity of proteins to react with nitroblue tetrazolium (NBT) was measured as an indirect means of analyzing proteins modified by oxidative stress. The reaction was carried out using 20 μ l of plasma, and the absorbance was measured at 530 nm to detect formazan [16]. The molar extinction coefficient for formazan, $E = 15 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, was used to calculate its concentration. 3) Free carbonyl groups were measured

using 50 μ l aliquots of plasma and 0.5 ml of 10 mM 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) [17]. The absorbance was measured at 370 nm; the molar extinction coefficient for DNPH ($E = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) was used to calculate the carbonyl concentration. 4) Total protein was measured by the method of Lowry [18].

Quantification of thiol groups as antioxidant biomarker

The total thiol concentration in the plasma was estimated with a spectrophotometric method involving 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), which reacts with accessible SH groups in proteins and is thereby reduced to a stable intermediate compound composed of mixed disulfide protein-S-S-aromatic [19]. 50 μ l of plasma from NW, OW, or O1 were diluted with 450 μ l of 0.2 M Trizma-base, pH 8.2, and 50 μ l of 1.5 mM DTNB, and 450 μ l of methanol were then added. The reaction mixture was incubated in the dark for 30 min and centrifuged at 1400 \times g for 10 min. The reduced product in the supernatant was measured spectrophotometrically at 412 nm. The final concentration of SH groups was calculated from a standard curve constructed using cysteine.

Determination of the oxidation status and structural changes in insulin

Recombinant human insulin (Lilly laboratories México, referred to as "native insulin" for this study) was used because it is indistinguishable structurally and functionally from pancreatic human insulin. Insulin was exposed to NW, OW, and O1 blood as previously described [13]. Briefly, 30 IU (1.5 mg) of native insulin were introduced into a 5 cm portion of membrane dialysis tubing with a cutoff of 3500 Da (Spectrum Laboratories, Inc. CA, USA). The dialyzing tubes were incubated at 37 °C in 6 ml of whole blood (from NW, OW, or O1) for 3 h. After incubation, the bags containing insulin were washed with distilled water. 5 IU (250 μ g) of insulin were used to determine the levels of formazan and carbonyls. These determinations were performed using the procedures indicated above. Effects of the blood from NW, OW, and O1 on the structure of insulin were analyzed with non-denaturing polyacrylamide gels. After incubation of insulin in blood from obese patients, 5 μ l (90 μ g) of insulin were diluted with an equal volume of 2 \times sample buffer (containing 50 mM TrisHCl, pH 6.8, 20% glycerol and 0.04% bromophenol blue) before being loaded onto 15% non-denaturing polyacrylamide gels. Coomassie Blue staining of polyacrylamide gels was performed to assess any changes in the electrophoretic mobility that might indicate changes in insulin structure.

Purification of oxidized and polymer insulin

Insulin exposed to blood from O1 patients was used as a source of oxidized and polymer insulin. 5 μ l (90 μ g) of insulin that had been exposed to this blood were diluted with an equal volume of 2 \times sample buffer (see above) before being loaded onto 15% non-denaturing polyacrylamide gels. The first lane from the gel was cut and stained with Coomassie blue to observe the pattern of electrophoretic mobility. Once the identities of polymer and oxidized insulin were assessed, the corresponding band in the unstained gel was cut out and purified by elution [20]. Coomassie blue staining in a polyacrylamide gel, following the method described in detail by Sasse and Gallagher, was performed to assess whether the single band was present after the purification procedure [21].

Generation of a polyclonal antibody against polymer of Insulin and Western blotting

The polyclonal antibody against the polymer of insulin used in this work was obtained as follows: insulin exposed to blood from O1 patients was used as a source of polymer. 5 µl (90 µg) of this insulin were diluted with an equal volume of 2× sample buffer and then loaded onto a 15% nondenaturing polyacrylamide gel. The pattern of electrophoretic mobility was performed as described above. Once the identities of polymer and oxidized insulin were assessed, the corresponding band in the unstained gel was cut out, purified by elution and inoculated to mice via intraperitoneal [22]. The detection of antibodies against polymer of insulin was confirmed by western blot using standard procedures [23]. Serum from the mouse inoculated with the polymer of insulin was used to detect its positivity. An antibody against insulin (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) was also used as a positive control. A rabbit anti-mouse horseradish peroxidase conjugate (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) was used as secondary antibody. Detection of insulin complex antibodies was done using 4-chloro-1-naphthol as recommended by the manufacturer (Sigma-Aldrich, MO, USA).

Intraperitoneal Insulin test in mouse

In agreement with the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals published by the National Institutes of Health, female mice weighing 20±2 g were maintained under controlled light-dark conditions at 20°C with food and water ad libitum. The mice were anesthetized with sodium phenobarbital (50 mg/kg), and native insulin or treated insulin (incubated in blood from NW, OW, or O1) was administered intraperitoneally (1.6 µg). Blood samples were taken from the tails at various times (0–20 min), and the glucose concentration was measured using a glucose analyzer. The glucose concentration at time 0 was considered to be 100%, and the other values were normalized accordingly. When hypoglycemic activity of insulin and insulin polymer purified (6 or 18 kDa) was analyzed the same amount and procedure mentioned above was performed.

Statistical analysis

Data are expressed as the means±standard deviation (SD) or as percentages. Analysis of variance (ANOVA) and Student's *t*-test were used to analyze the anthropometric characteristics and glycemia of the study subjects. ANOVAs (combined with Bonferroni post-hoc tests) were conducted to analyze the oxidative stress status of the blood samples, and the areas under the curve (AUC) of the changes in glucose levels produced by the administration of insulin to the mice. *p*-Values <0.05 were considered to be statistically significant. All tests were performed using Prism 5 software (GraphPad, San Diego, CA, USA).

Results

▼

Subjects

16 female subjects classified according to WHO guidelines as OW, O1 or NW participated in this study. The anthropometric characteristics of the study groups are shown in Table 1.

Plasma oxidation biomarkers and Insulin oxidation

To evaluate the oxidative stress status of the study groups, several biomarkers of oxidative stress present in plasma were analyzed. Table 2 shows the concentrations of oxidative stress

Table 1 Anthropometric parameters and glycemia values of the groups in study

Anthropometric parameters	Normal Weight (NW) (n=16)	Overweight (OW) (n=16)	Obese 1 (O1) (n=16)
Weight (kg)	54.7±1.7	70.5±1.6*	82.1±2.8**
Age	25.6±1.4	25.2±1.1	28.5±1.5
BMI (kg/m ²)	21.4±0.4	27.3±0.4*	31.6±0.4**
Glycemia (mg/dl)	82.5±1.8	88.1±2.1***	89.1±2.0***

Data are expressed as means±SD, analyzed by ANOVA and Student's *t*-test

p*<0.0001 NW vs. OW; *p*<0.0001 NW vs. O1; ****p*<0.0001 NW vs. OW and O1

Table 2 Oxidative status of the bloods and plasmatic concentration of biomarkers in each one of the groups in the present study

Biomarker	NW	OW	O1
TBARS (µM)	4.1±0.4	6.0±0.5*	6.5±1.2*
NBT (nmol/mg protein)	6.3±0.5	7.3±0.6	7.7±0.6
Carbonyl (nmol/osazone/mg protein)	0.71±0.06	0.78±0.08	0.79±0.05
DT URF/mg protein	110.6±15.7	131.5±20.7	105.1±11.3
SH (nmol/mg protein)	5.7±0.7	3.3±0.4*	3.6±0.7*

**p*<0.0001, NW vs. OW and O1

Table 3 Carbonyl group and formazan production by insulin incubated in blood

Biomarker	NW	OW	O1
Carbonyl (nmol/osazone/mg protein)	1.6±0.3	2.6±0.4*	2.8±0.4*
Formazan (µmol/mg protein)	65.5±4.9	67.5±4.5	83.5±7.8*

Data are expressed as means±SD and analyzed by ANOVA and Bonferroni post hoc test (**p*<0.001)

biomarkers detected in plasma samples from each group. The data obtained indicate the presence of higher levels of oxidative biomarkers related to lipid damage (TBARS) in the OW and O1 groups than in NW; furthermore, the amount of thiol groups (SH) was decreased in the OW and O1 groups compared to the control group (NW) (Table 2). These results indicate the presence of oxidative stress and a decrease in the function of antioxidant systems in the plasma of these patients.

To analyze the effects of imbalances in the oxidative stress and antioxidant systems present in OW and O1 blood on insulin, the hormone was incubated in each one of these blood samples as previously described. We then evaluated the levels of biomarkers of oxidation in the insulin; blood from NW was used as a negative control for oxidative stress.

The carbonyl group content of insulin increased after incubation in blood from OW and O1 (Table 3). However, the increase in the amount of formazan products was significantly higher only in the O1 group (Table 3). Interestingly, blood samples from OW and O1, unlike NW blood samples, had increased abilities to modify insulin. Because the system involved incubation of insulin in blood, the possibility exists that the iron liberated from hemoglobin through hemolysis could exert an oxidative effect on insulin. We eliminated this possibility verified the absence of hemolysis in our samples and quantified the levels of free iron in plasma before and after the incubation period. No differences were detected when intergroup comparisons were performed (data not shown).

Structural changes in Insulin Induced by oxidative stress

Because the data regarding oxidative markers in the insulin suggested that there might be structural changes in the hormone after its incubation with OW or O1 blood, we analyzed whether these chemical modifications could be observed as changes in the electrophoretic pattern of the hormone. After insulin was incubated in blood from patients, 90 µg of the hormone were loaded onto 15% nondenaturing polyacrylamide gels and separated by electrophoresis. Coomassie blue staining of the gel was performed to assess any changes in the electrophoretic pattern that might indicate structural changes in insulin. **Fig. 1a** illustrates a representative polyacrylamide gel showing the electrophoretic pattern obtained; lane 1 shows native insulin, lane 2 shows insulin incubated in water, and lanes 3 and 4 show insulin samples that were incubated in blood from NW and OW patients, respectively. A band of approximately 6 kDa was present in all of these samples; this is consistent with the molecular mass of 6 kDa for insulin. Interestingly, insulin samples incubated in blood from O1 patients show the presence of bands with higher molecular masses; an 18 kDa band was the most apparent (**Fig. 1a**, lanes 5 and 6). Because nondenaturing polyacrylamide gels separate proteins based on a combination of molecular properties, including shape, size and charge, we decided to separate our samples with denaturing polyacrylamide gels to determine the real molecular weight of the insulin polymers. Lane 1 in **Fig. 1b** shows the electrophoretic pattern obtained with the purified insulin polymer, lane 2 shows native insulin (6 kDa), and lane 3 shows insulin that was incubated in whole blood from an O1 patient. These data indicate that the polymer detected was preserved even in denaturing conditions and had a molecular weight of 70 kDa.

Hypoglycemic effect

Based on the oxidative marker data (**Table 3**) and the changes observed in the electrophoretic pattern of insulin after incubation with blood from O1 patients (**Fig. 1a**, lanes 5 and 6), we analyzed whether these chemical and structural modifications reduced insulin's function. Hypoglycemic effect induced by native insulin and insulin incubated in blood from NW, OW, and O1 after intraperitoneal administration in mice was performed. Native insulin and insulin incubated in blood from NW and OW patients had similar hypoglycemic activities. However, insulin

incubated with blood from O1 showed a decrease in activity (data not shown). Interestingly, analyses of the areas under the curves revealed an 18% inhibition of the hypoglycemic effect of insulin after incubation in blood from O1 patients. These results show that the chemical and structural changes observed in the treated insulin were sufficient to decrease its hormonal activity. Because the decrease in hormonal activity correlated with the generation of insulin polymers, we decided to investigate whether polymer formation was the principal cause of insulin inactivation. The 2 bands (6 and 18 kDa) were purified from nondenaturing polyacrylamide gels. **Fig. 2a** shows a Coomassie blue-stained polyacrylamide gel that demonstrates the purification of the polymer and purified insulin; each form of the purified protein was used in a hypoglycemia assay to evaluate its function. **Fig. 2b** shows the hypoglycemic effects induced by insulin and the insulin polymer generated by exposure to blood from an O1 patient. Intraperitoneal administration of the insulin polymer to mice revealed complete inhibition of its activity (**Fig. 2b**); in fact, it performed similarly to the control saline solution. However, when purified insulin (6 kDa) was administered, a hypoglycemic effect similar to that of native insulin was observed (**Fig. 2b**). Interestingly, the analyses of area under the curve showed a complete inhibition of the biological activity of the insulin polymer. These results show that the blood from obese 1 patients induces chemical and structural changes in insulin that promote the polymerization and inactivation of the hormone.

Immunoreactivity of the Insulin polymer

The chemical and structural alterations in insulin contributed to the changes in its biological properties. We evaluated the effects of these modifications on insulin immunoreactivity. Western blot analysis was performed using insulin incubated in blood from O1 patients, an antibody against insulin and a polyclonal antibody against the insulin polymer (see Materials and Methods). **Fig. 3a** shows that the commercial antibody against insulin recognized both proteins (lane 2); interestingly, the antibody against the insulin polymer did not recognize the 6 kDa band (**Fig. 3b**, lane 2). In fact, a Western blot performed with native insulin had a similar result (data not shown). These results suggest that the chemical and structural changes in insulin induce the formation of new antigenic epitopes in the hormone, which could be related to an increase in its immunogenicity.

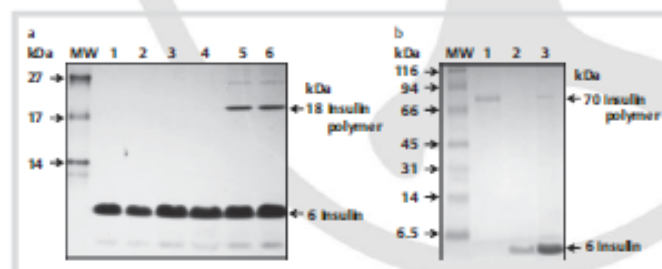


Fig. 1 Electrophoretic pattern of insulins incubated in blood. **a** Coomassie blue-stained nondenaturing polyacrylamide (15%) gels of insulins incubated in blood from NW, OW, and O1 patients. Lane 1 native insulin, lane 2 insulin incubated in water, lane 3 and 4 insulin incubated in blood from NW and OW respectively, and lane 5 and 6 insulin incubated in blood from O1 patients. The arrow indicates an insulin polymer with an apparent molecular mass of 18 kDa. Notice that this band is only present

in insulin incubated in blood from O1 patients. **b** Coomassie blue-stained SDS-polyacrylamide (17%) of insulin incubated in blood from O1 patient. Lane 1 purified polymer, lane 2 native insulin, lane 3 insulin incubated in blood from O1 patient. The arrow indicates the insulin polymer with a molecular mass of 70 kDa. The molecular masses of the markers (kDa) are given on the left side of each panel (MW).

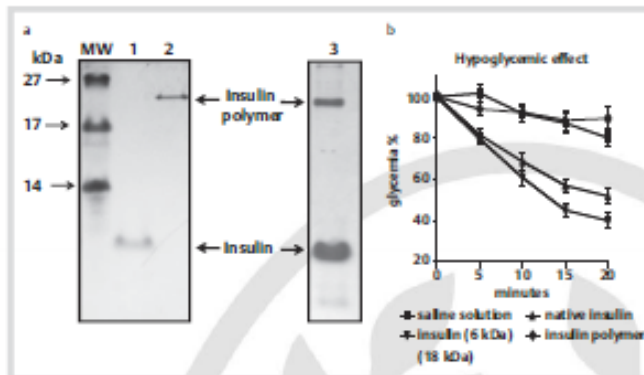


Fig. 2 Purification of insulin, polymer, and hypoglycemic effects. **a** Coomassie blue-stained nondenaturing polyacrylamide (15%) gel of polymer and purified insulin. Lane 1 band corresponding to native insulin (6 kDa), lane 2 insulin polymer (18 kDa), lane 3 insulin incubated in blood from O1 patients. The arrows indicate both purified proteins. The molecular weight markers (kDa) are given on the left side of panel. **b** Hypoglycemic effect of insulin and insulin purified polymer. Mice were anesthetized, and insulin or polymer purified (bands 6 or 18 kDa) was administered intraperitoneally (1.6 µg, respectively). Blood samples were taken and the glucose concentration was measured. The glucose concentration at time 0 was considered to be 100%, and the other values were normalized accordingly.

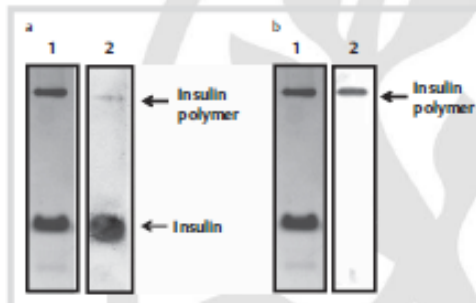


Fig. 3 Immunoreactivity of the polymer of insulin. **a** and **b** (lane 1) Coomassie blue-stained nondenaturing polyacrylamide (15%) gel of insulin incubated in blood from O1 patients. **a** Lane 2, Western blot using an antibody against insulin. **b** Lane 2, Western blot of insulin using an antibody against polymer insulin. The arrows indicate the protein that was recognized by each antibody.

Discussion

In this study, we demonstrate that incubation of insulin in blood from O1 patients results in the generation of chemical modifications of the hormone that induce its polymerization. This polymerization is related to a decrease in insulin's biological activity and changes in its immunoreactivity. It is important to mention that major alterations in insulin were observed when it was incubated in whole blood from O1 patients vs. blood from OW or NW subjects. We suggest that these alterations in the hormone may be caused by the adverse milieu in the blood from O1 patients. These results are in agreement with our previous study, where we showed that the blood from diabetic patients also may modify the insulin [13]. Because we have observed insulin modification in obesity and diabetes mellitus, we postulated that independently of the pathology, the presence of an oxidative stress is important part to impair the hormone. Indeed, the high levels of carbonyl groups detected in the hormone after its incubation in blood from OW and O1 patients indicate that reactive oxygen species (ROS) are involved. These results are supported by other studies, which have observed that lower SH levels in obese patients induce oxidative stress [13,24,25]. Moreover, high TBARS concentration in these patients and the

capacity of these substances to interact with amino acids, such as lysine, cysteine, and histidine, favors the formation of adducts between these molecule and insulin [26]; however, the unspecific TBARS assay does not allow to determine which lipid peroxidation products are involved in this process, because several products such as aldehydes, MDA, 4-hydroxynonenal, acrolein among others, may react with TBA [27]. On the other hand, the increase in formazan concentration in insulin after its incubation in blood from O1 patients reflects the hydroxylation of phenylalanine residues at positions 1, 25 and 26 in the B chain, which results in the formation of new tyrosine residues. This observation is supported by our previous reports where an increase of formazan products on insulin is associated with an increase of tyrosines in the hormone [12,28]. It is important to mention that these tyrosines and other tyrosine residues (at positions 14 and 19 in the A chain and 16 and 26 in the B chain) are susceptible to oxidation by hydroxyl radicals, resulting in the generation of tyrosyl radicals. If 2 tyrosyl radicals were to react to form an intra- or intermolecular dityrosine bond, this could contribute to the formation of the insulin polymer observed. Though the oxidation of insulin by ROS at specific residues could explain the loss of function of the hormone and its polymerization, other events, such as the cleavage of inter-(cys (A7-B7) and (A20-B19)) and intra-(A6-B11) molecular disulfide bonds by hydroxyl radicals, could also participate. In this case, the cleavage of disulfide bonds could help to generate thiyl radicals. These thiyl radicals could be stabilized via interactions with other thiyl radicals, generating new (intra- or intermolecular) disulfide bonds and resulting in the formation of polymers. Although it has been shown that mutations in insulin (e.g., Phe-B25-Leu and Phe-B24-Ser) are associated with the development of insulinopathies [29,30], we propose that the alterations in specific residues caused by ROS could not only alter the function of the hormone but also induce its polymerization. In fact, a loss of the insulin functionality after its incubation in blood in an oxidant milieu supports the hypothesis of an oxidative damage. It is known that oxidative damage to proteins can impair their function [31,32], as was demonstrated here by the decrease in insulin activity that we detected. On the other hand, recombinant human insulin used in this study has a high homology with mouse insulin, indicating the existence of an immunology tolerance between species; interestingly, during the generation of antibody, we detected a specific and fast immune response against insulin polymer. These data suggest that the changes generated in the hormone play a

important role to break this tolerance, indeed, it has been suggested that oxidative damage to proteins might be of particular importance *in vivo* because these modifications might generate new antigens and to induce an immune response [33]. In conclusion, we have demonstrated that the incubation of insulin with blood from OI patients induces chemical modifications in the hormone that decrease in its biological activity and cause it to polymerize. We propose a scenario in which molecular damage induced by oxidative stress results in an inactivation, polymerization, and changes in the immunoreactivity of insulin. We suggest a control of these events in the obese patient as have been shown by Dandona [34]. The implementation of a dietary restriction with weight loss of the obese could prevent the oxidative stress and as a consequence the insulin damage, the development of insulin resistance, or diabetes mellitus type 2.

Acknowledgements



This study was supported by grants IPN-ESM-SIP 20080303, 20082978, and 20090030.

References

- Vincent HK, Taylor AC. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes* 2006; 30: 400–418.
- Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: Mediator linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772–783.
- Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: Inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92: 347–355.
- Konukoglu D, Serin O, Turhan MS. Plasma leptin and its relationship with lipid peroxidation and nitric oxide in obese female patients with or without hypertension. *Arch Med Res* 2006; 37: 602–606.
- Oluzi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes* 2002; 26: 1159–1164.
- Duncan E, Ezor V, Kearney M. Insulin and endothelial function: physiological environment defines effect on atherosclerotic risk. *Curr Diabetes Rev* 2006; 2: 51–61.
- Halliwel B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovasc Res* 2000; 47: 410–418.
- Wilborn C, Beckham J, Campbell R, Harvey T, Galbreath M, La Bounty P, Nazzari E, Wismann J, Kreider R. Obesity: prevalence, theories, medical consequences, management, and research directions. *J Int Soc Sports Nutr* 2005; 2: 4–31.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752–1761.
- McGill HC Jr, C McMahon A, Herderick EE, Zieske AW, Malcolm GT, Tracy RE, Strong JP. Obesity Accelerates the Progression of Coronary Atherosclerosis in Young Men. *Circulation* 2002; 105: 2712–2718.
- Reaven GM. All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals. *Diab Vasc Dis Res* 2005; 2: 105–112.
- Choi K, Kim YB. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med* 2010; 25: 119–129.
- Montes-Cortés DH, Hicks JJ, Ceballos-Reyes GM, García-Sánchez JR, Medina-Navarro R, Olivares-Corichi IM. Chemical and functional changes of human insulin by *in vitro* incubation with blood from diabetic patients in oxidative stress. *Metabolism* 2010; 59: 935–942.
- Uzun H, Konukoglu D, Gelligen R, Zengin K, Taskın M. Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2007; 17: 1367–1373.
- Yagi K. Sample procedure for specific assay of lipid hydroperoxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol* 1998; 108: 107–110.
- Gierge SP, Simpson JA, Charlton TS, Duncan MW, Dean RT. Protein-bound 3,4 dihydroxyphenylalanine is a major reductant formed during hydroxyl radical damage to proteins. *Biochemistry* 1993; 32: 4780–4786.
- Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357–363.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265–275.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70–77.
- Smith AJ. Electrophoretic separation of proteins. In: Ausubel FM (ed.). *Short Protocols in Molecular Biology*. New York: Wiley, 1992; 1023–1026.
- Sasse J, Gallagher SR. Detection of proteins. In: Ausubel FM (ed.). *Short Protocols in Molecular Biology*. New York: Wiley, 1992; 1029–1030.
- Lane D. Monoclonal antibodies. In: Harlow E (ed.). *Antibodies, A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990; 139–244.
- Lane D. Immunoblotting. In: Harlow E (ed.). *Antibodies, A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990; 471–510.
- Ozyüdin A, Onaran I, Yegim TE, Sargin H, Aygar K, Sultuybek G. Increased glutathione conjugate transport: a possible compensatory protection mechanism against oxidative stress in obesity? *Int J Obes* 2006; 30: 134–140.
- Jodo Cabrera E, Valeri AC, DeFino VI, Lavado EL, Barbosa DS. Reduction in plasma levels of inflammatory and oxidative stress indicators after Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2009; 20: 42–49.
- Delle-Donne I, Ricci R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23–38.
- Halliwel B, Whitman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142: 231–255.
- Olivares-Corichi IM, Ceballos G, Medina-Sanz R, Medina-Navarro R, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Oxidation by reactive oxygen species (ROS) alters the structure of human insulin and decreases the insulin-dependent D-glucose-C14 utilization by human adipose tissue. *Front Biosci* 2005; 10: 3127–3131.
- Shoelson S, Haneada M, Bux P, Nanjo A, Sanke T, Inouye K, Steiner D, Rubenstein A, Tager H. Three mutant insulins in man. *Nature* 1983; 302: 540–543.
- Steiner DF, Tager HS, Chan SJ, Nanjo K, Sanke T, Rubenstein AH. Lesson learned from molecular biology of insulin-gene mutation. *Diabetes Care* 1990; 13: 600–609.
- Imray JA. Pathways of oxidative damage. *Annu Rev Microbiol* 2003; 57: 395–418.
- Nyström T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *EMBO J* 2005; 24: 1311–1317.
- Gomez-Mejiba SE, Zhai Z, Akram H, Pye QN, Hensley K, Kurien BT, Scafield RH, Ramirez DC. Inhalation of environmental stressors & chronic inflammation: autoimmunity and neurodegeneration. *Mutat Res* 2009; 674: 62–72.
- Dandona P, Mohanty P, Chazim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, Prabhala A, Afzal A, Garg R. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 355–362.

Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**NLM Title Abbreviation:** Horm Metab Res**ISO Abbreviation:** Horm. Metab. Res.**Title(s):** Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme.**Other Title(s):** Hormon- und Stoffwechselforschung
Hormones et métabolisme**Publication Start Year:** 1969**Frequency:** Thirteen no. a year, 2010-**Country of Publication:** Germany**Publisher:** Stuttgart, Thieme.**Description:** v. illus.**Language:** English**ISSN:** 0018-5043 (Print)
1439-4286 (Electronic)
0018-5043 (Linking)**Acid-Free:** No**Coden:** HMMRA2**LCCN:** 79014300**Electronic Links:** <http://www.thieme-connect.de/ejournals/toc/hmr>**Fully Indexed In:** Index medicus v1n1,Jan. 1969-
MEDLINE v1n1,Jan. 1969-**Indexed In:** PubMed v1n1,Jan. 1969-**Current Indexing Status:** Currently indexed for MEDLINE.**Current Subset:** Index Medicus**Version Indexed:** Electronic**MeSH:** Endocrinology*
Hormones*
Metabolic Diseases*
Metabolism***Publication Type(s):** Periodicals**Notes:** Also issued online.
Articles in English, French, or German.**Other ID:** (DNLM)H17060000(s)
(OCoLC)01588475**NLM ID:** 0177722 [Serial]

Impact Factor

HORMONE AND METABOLIC RESEARCH Impact Factor

[Ads by Google](#)
[The Journal](#)
[Impact Factor](#)
[Science Research](#)
[On Line Journal](#)

Journal Abbreviation: HORM METAB RES

Journal ISSN: 0018-5043

Year	Impact Factor (IF)	Total Articles	Total Cites
2010	2.414	160	3830
2009	2.686	149	3858
2008	2.715	149	3799

ANEXO XXVI: Gaceta medica de Mexico

Efecto de una dieta hipocalórica, ejercicio aeróbico moderado y antioxidantes sobre el estrés oxidativo presente en plasma de sujetos obesos

Liliana López Gutiérrez^{1,2}, José Rubén García Sánchez², Eleazar Lara Padilla^{1,2}, María de Jesús Rincón Víquez¹, Ivonne María Olivares Corichi¹

¹Departamento de deporte e informática, Universidad Pablo de Olavide; Carretera Utrera Km1-41013, Sevilla España. ²Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina del IPN. México, DF.

Correspondencia:

José Rubén García Sánchez. Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n. Casco de Santo Tomás, México, DF. Tel y Fax (01)-55-57-29-600 extensión 62820 y 62819. e-mail: rubeng26@excite.com

Título corto: Efecto de la dieta, ejercicio y antioxidantes en el estrés oxidativo

Palabras clave: Obesidad, estrés oxidativo, antioxidantes, daño oxidativo.

RESUMEN

Antecedentes: México es uno de los países más afectados por obesidad. La obesidad se caracteriza por un aumento generalizado de tejido adiposo, alta producción de adipocitocinas y especies reactivas de oxígeno, lo cual, induce un estrés oxidativo y daño molecular. **Objetivo:** Evaluar los cambios inducidos en el estrés oxidativo del sujeto obeso por una dieta hipocalórica en combinación con ejercicio aerobio moderado y una suplementación con antioxidantes. **Métodos:** Biomarcadores de estrés oxidativo fueron determinados en el plasma de 30 normopeso y 30 obesos. Tres grupos de tratamiento fueron formados, dieta hipocalórica (DH), DH más ejercicio aeróbico moderado (DHE) y DHE más antioxidantes (DHEA). Los efectos de estos tratamientos sobre estrés oxidativo y parámetros antropométricos fueron analizados. **Resultados:** Se demostró la presencia de estrés oxidativo en obesos; el cual, fue disminuido con una DH. La DH también modificó los parámetros antropométricos. No hubo efectos benéficos adicionales con los tratamientos DHE ó DHEA. **Conclusión:** En este trabajo demostramos que una DH reduce el daño oxidativo en obesos. Además, si se considera que el estrés oxidativo es un factor importante en el desarrollo de otras patologías en la obesidad, proponemos que una DH debe ser la base de un tratamiento para reducir el peso y el daño oxidativo del sujeto obeso.

Effect of a hypocaloric diet, moderate aerobic exercise and antioxidants on oxidative stress present in plasma from obese subjects.

ABSTRACT

Background. Mexico is one of the countries most affected by obesity. Obesity is characterized by an increase generalized of fatty tissue, high production of adipocytokines and reactive oxygen species, which induce an oxidative stress and molecular damage. **Objective:** To evaluate the changes induced in the oxidative stress of the obese subject by a hypocaloric diet in combination with moderate aerobic exercise and a supplementation with antioxidant. **Methods:** Oxidative stress biomarkers were determined in the plasma from 30 normoweight and 30 obese. Three groups of treatment was formed, hypocaloric diet (HD), HD plus moderate aerobic exercise (HDE) and HDE plus antioxidant (HDEA). The effects of these treatments on oxidative stress and anthropometric parameters were analyzed. **Results:** It was demonstrated the presence of oxidative stress in obese; which was decrease with HD. HD also modified the anthropometric parameters. There were not additional benefits effects with HDE or HDEA treatments. **Conclusion:** In this study we demonstrated that a HD reduces the oxidative damage in obese. In addition, whether we considered that oxidative stress is an important factor in the development of other pathologies in the obesity, we propose that HD must be the base of a treatment to reduce the weight and oxidative stress of the obese subject.

Key words: Obesity, oxidative stress, antioxidants, oxidative damage.

Introducción

La obesidad se ha convertido en un serio problema de salud pública debido al incremento de su prevalencia en las últimas décadas¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, donde México es uno de los países más afectados. En México, la última encuesta nacional de salud y nutrición en el 2006; mostró que el 30% de los individuos mayores de 20 años presentan sobrepeso y obesidad². La obesidad es una enfermedad de origen multifactorial, caracterizada por el aumento generalizado de tejido adiposo que condiciona a un incremento en la producción de citocinas proinflamatorias como son IL-1, IL6 y TNF- α ^{3,4}. De hecho, la obesidad se considera un estado de inflamación crónico, que se acompaña con un incremento en la producción de EROs y como consecuencia el desarrollo de un estado de estrés oxidativo sistémico^{5,6}. El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre los sistemas oxidantes y antioxidantes, donde la mayor producción de EROs y la menor capacidad antioxidante conducen a la oxidación de biomoléculas y tejidos que conlleva a una pérdida de su función biológica⁷⁻⁹. El daño oxidativo se ha implicado con el desarrollo de varias enfermedades como son la diabetes mellitus tipo 2¹⁰, aterosclerosis¹¹, enfermedades pulmonares¹², trastornos neurodegenerativos¹³, cáncer, entre otras¹⁴. Existe una variedad de antioxidantes que protegen contra las EROs y previenen el daño oxidativo. Si bien, un grupo de estos antioxidantes son enzimáticos o intracelulares (superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa); existen otros antioxidantes provenientes de la dieta como son la vitamina A, E, C flavonoides y carotenoides¹⁵. Actualmente, las evidencias muestran que el empleo de

ejercicio aeróbico moderado en el paciente obeso favorece un incremento de la capacidad antioxidante¹⁶ y citocinas anti-inflamatorias¹⁷, lo cual, puede inducir una disminución en la inflamación sistémica¹⁸ y el estrés oxidativo¹⁹. Por otro lado, los reportes que señalan una disminución del estrés oxidativo por una restricción calórica²⁰, o por el uso de agentes protectores contra el estrés oxidativo (vitaminas y antioxidantes)²¹, permiten hipotetizar que el uso de una dieta hipocalórica en combinación con ejercicio aeróbico moderado y una suplementación de antioxidantes, podría ser una buena opción en el tratamiento de la obesidad con un efecto benéfico sobre el estrés oxidativo. En el presente estudio se evaluó el efecto de una dieta hipocalórica en combinación con ejercicio aeróbico moderado y una suplementación de antioxidantes, sobre el estrés oxidativo sistémico presente en sujetos obesos.

Material y Métodos

Sujetos obesos y voluntarios sanos

El protocolo de este estudio fue aprobado por el comité de investigación y ética de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Un consentimiento informado por escrito fue obtenido de cada uno de los pacientes. El estudio se realizó de acuerdo con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de 1975 (revisada en 1983) y fue consistente con las guías de buena práctica clínica.

El tamaño de la muestra fue calculado empleando la ecuación $N=2[(Z\alpha - Z\beta)]^2 \cdot S^2/d^2$, tomando como referencia la desviación estándar del parámetro de carbonilos en unidades de nmol de asazona/mg de proteína²² donde; N=número de pacientes, $Z\alpha$ = valor de Z al 95%, $Z\beta$ = valor de Z al 80%, $S = \pm$

DS = 0.2 y d = 0.3; por lo tanto, $N = 2[(1.96 \pm 0.84)]^2 * (0.2)^2 / (0.3)^2$. El cálculo resultó un valor de N=8; sin embargo, treinta sujetos obesos grado 1 fueron incluidos. Los sujetos obesos fueron clasificados de acuerdo con la OMS empleando el Índice de Masa Corporal (IMC)¹. El IMC fue calculado dividiendo el peso corporal en kilogramos (kg) por la estatura en metros al cuadrado (m²). De acuerdo con la OMS, sujetos con un IMC de 18.5 a 24.9 kg/m² fueron considerados normopeso (NP) y sujetos con un IMC de 30 a 34.9 kg/m² como obesos grado 1 (O1). Parámetros antropométricos (edad, peso, estatura, cintura, cadera, porcentaje de grasa corporal, IMC e ICC) fueron evaluados en cada grupo (Tabla 1). Los siguientes sujetos fueron excluidos del estudio: 1) Sujetos diabéticos, hipertensos o con hipotiroidismo, 2) Sujetos con ingesta de antioxidantes (vitamina C, vitamina E, ácido alfa-lipoico, beta-caroteno, probucol, carvedilol o quelantes de hierro) o pro-oxidantes (primaquina o hierro) en los pasados seis meses y 3) pacientes con infecciones.

Conformación de grupos en estudio

Los treinta sujetos O1 fueron distribuidos al azar en tres grupos de 10 miembros para formar los siguientes grupos de tratamientos: 1) Dieta Hipocalórica (DH), 2) Dieta Hipocalórica y Ejercicio moderado aeróbico (DHE) y 3) Dieta Hipocalórica, Ejercicio moderado aeróbico y Antioxidantes (DHEA).

Dieta hipocalórica

La dieta se prescribió de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el manejo y control de la obesidad. Fue asignada de acuerdo a la historia clínica nutricional, restringiendo en un 20% el requerimiento calórico diario (obtenido con la fórmula de Haris-Benedict)²³. La distribución nutrimental se ajustó a lo recomendado por la Asociación Americana de Diabetes (hidratos de carbono

50%, grasas 30 % y proteínas totales 20%). El plan de alimentación se prescribió empleando las listas de equivalentes de alimentos de la Asociación Americana de Dietética y del Sistema Mexicano de Alimentos.

Ejercicio moderado aeróbico

El ejercicio moderado aeróbico fue monitoreado de manera personalizada. La intensidad fue calculada con la frecuencia cardiaca máxima (FcMax), empleando la fórmula de Karvonen ($220 - \text{edad}$)²⁴. En sujetos obesos, una FcMax entre 60 al 70% mantenida durante el ejercicio se consideró un ejercicio moderado. La FcMax fue controlada con un pulsímetro y el ejercicio fue realizado en una banda sin fin, sin inclinación y en sesiones de 30 minutos 3 veces por semana.

Suplemento multivitamínico con antioxidantes.

Se administró vía oral una cápsula diaria de lunes a viernes, durante tres meses. La composición de antioxidantes por cápsula fue: vitamina A (1000 µg), vitamina C (100 mg), vitamina E (100 mg), tiamina (5 mg), vitamina B12 (5.0 µg), piridoxina (5.0 mg), magnesio (87.5 mg), zinc (15 mg), ácido fólico (400 µg), selenio (70 µg) y cromo (70 µg). La cápsula de antioxidantes (Diabion®) fue donada por los laboratorios Merck, S.A. de C.V., Ciudad de México.

Muestras de sangre

Cinco mililitros de sangre venosa periférica fueron obtenidos de la vena mediana antebraquial del antebrazo. La sangre fue obtenida en un tubo de ensayo con 86USP de heparina sódica, se centrifugó a 3,500 rpm durante 15min. El plasma fue almacenado a -80°C hasta el momento de su procesamiento.

Biomarcadores de estrés oxidativo.

Biomarcadores de daño oxidativo fueron determinados en el plasma de los grupos en estudio. El daño a lípidos circulantes fue determinado cuantificando Compuestos Reactivos al Ácido Tiobarbitúrico (CRAT). Cien microlitros de plasma fueron mezclados con 400 μL de amortiguador (Tris-base 7.2 mM, pH=8) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.375% en HCl 0.2 N. Se incubó a 90 °C, 15 minutos y se dejó enfriar la reacción por 5 min. Se agregaron 500 μL de HCl 0.2 N y la absorbencia fue determinada a 529 nm²⁵. Una curva estándar fue construida empleando 1,1,3,3-tetrametoxipropano (Malondialdehído bis (dimetilacetil)) (Sigma. St. Louis, MO, USA) y los resultados fueron reportados en concentración micromolar.

Los grupos carbonilo libres fueron determinados en 50 μL de plasma, mezclados con 500 μL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH 10 mM en HCl 2.5 M). Todas las muestras tuvieron su respectivo blanco (50 μL de plasma y 500 μL de HCl 2.5 M). Muestras y blancos fueron incubados 1h a temperatura ambiente, protegidos de la luz y con agitación cada 15 min. Posteriormente se agregó 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 5% y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. El sobrenadante fue eliminado y el precipitado se disolvió en 1 mL de TCA al 2.5%, se centrifugó a 3000 rpm, 10 min, y el sobrenadante fue eliminado. La pastilla fue disuelta en 2 mL de etanol/acetato de etilo (1:1 v/v) y nuevamente fue centrifugada. El sobrenadante fue eliminado y el precipitado se dejó secar por 5 min. Finalmente el precipitado se disolvió en 1 mL de guanidina 6 M conteniendo fosfato de potasio 20 mM a pH 2.3 e incubando 10 minutos a 37°C. La absorbencia fue determinada a 370 nm detectando la formación de dinitrofenilhidrazonas. El coeficiente de extinción molar para DNPH ($E = 22,000/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) fue empleado para calcular la concentración de

carbonilos²⁶. Los resultados fueron reportados como nmol de osazonas/mg proteína.

Dímeros de tirosina (ditirosinas) fueron determinados empleando 100 µL de plasma, mezclados con 1.9 mL de urea 6 M (preparada en NaHCO₃ 0.1 M, pH=9.8) e incubando 30 minutos a temperatura ambiente. Las Unidades Relativas de Fluorescencia (URF) fueron determinadas a 320 nm de excitación y 405 nm de emisión²⁷. Las URF obtenidas fueron reportadas por mg proteína. El contenido de proteínas totales fue determinado por el método de Lowry²⁸.

Resultados

Sujetos

Treinta sujetos con IMC normal (NP) y O1 participaron en este estudio. Las características de los sujetos son mostrados en la tabla 1. Como se esperaba el grupo de sujetos obesos mostró un IMC que los clasificó como O1. De hecho, estos sujetos presentaron el doble de grasa corporal, con una circunferencia de cintura y cadera incrementada en comparación al grupo control (Tabla 1).

Biomarcadores de estrés oxidativo en plasma

El estado de estrés oxidativo de los sujetos en estudio fue evaluado determinando los valores de biomarcadores de daño oxidativo en plasma. En la tabla 2 se muestran los valores de biomarcadores de daño oxidativo obtenidos; como se puede observar el marcador de daño a lípidos o productos de lipoperoxidación (CRAT) se encontraron incrementados en el grupo de O1 y en comparación al NP. De manera similar, los valores de biomarcadores de daño a proteínas (carbonilos y ditirosinas) fueron mayores en O1 y en comparación

al grupo NP (Tabla 2). Estos resultados indicaron que los sujetos O1 se encontraban bajo un estado de estrés oxidativo.

Efecto de la dieta hipocalórica sobre el estrés oxidativo sistémico

Para determinar el efecto de una dieta hipocalórica sobre el estrés oxidativo presente en sujetos obesos, se seleccionó azarosamente un grupo de 10 sujetos O1, los cuales, fueron tratados con una dieta hipocalórica (DH) durante 90 días (ver material y métodos) y los biomarcadores de estrés oxidativo fueron evaluados al término del tratamiento. Como se puede observar en la figura 1, el grupo de O1 presentó niveles incrementados de CRAT, grupos carbonilo y ditirosinas (14.7 ± 1.6 , 0.95 ± 0.05 y 495.2 ± 46.7 uM, respectivamente) previos al tratamiento (D0). Interesantemente, el tratamiento provocó una disminución en los valores de daño a lípidos [CRAT (4.7 ± 0.9 uM)]; de hecho, la dieta generó una disminución de CRAT por debajo de los valores detectados en sujetos NP (Figura 1A). Cuando los biomarcadores indicativos de daño a proteínas fueron analizados, no se observó una diferencia estadísticamente significativa en grupos carbonilos (0.76 ± 0.07 nmol osazonas/mg proteína), sin embargo, los valores de ditirosinas mostraron una disminución (344.1 ± 25.8 URF/mg proteína) (Figura 1C); si bien, esta disminución no alcanzó los valores detectados en sujetos NP, su disminución fue estadísticamente significativa (Figura 1C).

Dieta hipocalórica, ejercicio, antioxidantes y estrés oxidativo.

Debido a que el tratamiento con una DH indujo una disminución en marcadores de daño oxidativo, investigamos si una suplementación de este tratamiento con ejercicio y/o antioxidantes podría incrementar el efecto observado. Dos grupos de 10 sujetos con O1 fueron seleccionados azarosamente. Un grupo fue

tratado con DH más ejercicio (DHE) y el segundo grupo con DHE más antioxidantes (DHEA). Los tratamientos fueron realizados como se indica en métodos y los biomarcadores de estrés oxidativo fueron analizados al final de estos. Como se puede observar en la figura 2A, la suplementación de ejercicio moderado aeróbico al tratamiento con dieta hipocalórica (DE-90) no generó un efecto adicional en la disminución de CRAT. Por otro lado, hubo un discreto aumento en este marcador en el tratamiento suplementado con ejercicio y antioxidantes (Figura 2A, DHEA) este incremento no fue estadísticamente significativo. Además, la suplementación de ejercicio y antioxidantes no generó ningún cambio adicional en los valores de grupos carbonilo (Figura 2B, DHE, DHEA). Interesantemente, el marcador ditirosinas mostró una disminución en sus valores con DH, valores que fueron muy similares cuando una combinación con ejercicio fue realizada (Figura 2C, DHE), de hecho, el mismo comportamiento fue observado aun con el empleo de antioxidantes (Figura 2C, DHEA).

Dieta hipocalórica induce cambios en los parámetros antropométricos

Considerando que la DH fue el único tratamiento que generó una disminución en el estrés oxidativo de sujetos O1; decidimos analizar los efectos de este tratamiento sobre los parámetros antropométricos. Como se puede observar en la tabla 3, todos los parámetros antropométricos modificables presentaron una disminución que fue estadísticamente significativa. Finalmente, analizamos estos mismos parámetros cuando el ejercicio y antioxidantes fueron suplementados en el tratamiento. Los resultados mostraron una disminución en los valores de estos parámetros, los cuales, fueron similar en los tres tratamientos (ver tabla 3), estos resultados sugieren que un tratamiento con DH

es suficiente para modificar los parámetros antropométricos en el sujeto obeso, aun con la omisión de ejercicio moderado aeróbico y/o antioxidantes.

Discusión

En este estudio se establecieron los efectos del tratamiento con una DH sobre el estrés oxidativo sistémico presente en sujetos O1. Además, se determinó si una suplementación de este tratamiento con ejercicio moderado aeróbico ó la combinación ejercicio moderado aeróbico/antioxidantes contribuyen a mejorar los efectos observados con la dieta hipocalórica. Los datos obtenidos mostraron que el tratamiento con una DH en un periodo corto de tiempo (90 días) disminuyen el estrés oxidativo sistémico presente en los sujetos O1. Estos resultados están de acuerdo con los estudios realizados por Skalicky J y col.²⁰ quienes observaron similares efectos sobre el estrés oxidativo después de la aplicación de una restricción calórica²⁹. Interesantemente, nuestro estudio muestra que el empleo de una DH reduce en un 68% los niveles de CRAT, lo cual, es de gran relevancia debido a que un incremento en los valores de este marcador está ampliamente asociado con las comorbilidades desarrolladas en el sujeto obeso³⁰. Por otro lado, este mismo tratamiento indujo una disminución del 30% en el biomarcador de dítirosinas; sugiriendo una disminución en el daño a proteínas en el sujeto obeso. Es importante señalar que estos efectos benéficos estuvieron acompañados con una disminución en los valores de parámetros antropométricos, indicando no solo un mejoramiento del estado de estrés oxidativo en el sujeto O1, sino también en la disminución del IMC, índice cintura/cadera y contenido de grasa corporal (tabla 3).

Cuando el análisis de la suplementación de este tratamiento con ejercicio aeróbico moderado fue realizado, no se observaron efectos benéficos adicionales. Si bien, actualmente existe una controversia sobre los beneficios del ejercicio aeróbico moderado en el manejo de la obesidad^{30,31}, nuestros resultados no muestran efecto alguno, nosotros hipotetizamos que el corto periodo de tiempo de nuestra intervención (90 días), no permitió observar los posibles cambios, de hecho, nosotros creemos que estudios posteriores donde un mayor tiempo de ejercicio sea considerado, permitirá observar los beneficios de la suplementación de ejercicio en el tratamiento de la obesidad con una dieta hipocalórica. De manera similar, cuando el tratamiento de DH fue suplementado con una combinación de ejercicio y antioxidantes, los resultados mostraron la carencia de algún efecto benéfico adicional. Es importante hacer notar, que inicialmente esperábamos observar un efecto benéfico con esta suplementación, considerando que los sujetos obesos presenta niveles disminuidos de antioxidantes³², sin embargo, la falta de un efecto adicional podría explicarse por un efecto compensatorio por parte de la dieta en esta carencia, de hecho, pensamos que parte del efecto generado por el tratamiento con DH pudo haber sido generado por el aporte vitamínico y antioxidante de los alimentos. Nosotros sugerimos que un estudio donde se determine los niveles de vitaminas en sujetos obesos antes y después de un tratamiento con DH podría ser de gran relevancia. Los datos obtenidos en este estudio permiten proponer que la reducción del estrés oxidativo en el sujeto obeso por DH, se favoreció por la restricción calórica ejercida y la promoción de una utilización de ácidos grasos libres y tejido adiposo, lo cual generó una disminución en el tejido graso y en consecuencia una menor producción de ERO³³. Además, si

consideramos que la dieta pudo haber fortalecido la capacidad antioxidante, una mayor eficacia en la neutralización de radicales libres pudo haber existido. Finalmente, la pérdida de esta grasa corporal permitió obtener una disminución del índice cintura/cadera, sugiriendo una reducción del desarrollo de comorbilidades en el sujeto obeso³⁴. En conclusión este trabajo pone de manifiesto que un tratamiento basado en una DH es efectivo para reducir el daño oxidativo en sujetos O1. Además, si consideramos que el estrés oxidativo es un factor importante para el desarrollo de otras patologías en la obesidad, esta estrategia podría ser parte de un tratamiento que considera la reducción de peso, el daño oxidativo y como consecuencia mayor beneficio durante el tratamiento de la obesidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. **World Health Organization 2000.** Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. WHO Obesity Technical Report Series 894. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
2. **Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.** México. 2006. pag. 128.
3. **Frayn KN.** Obesity and metabolic disease: is adipose tissue the culprit?. Proc Nutr Soc 2005; 64(1):7-13.
4. **Zorzanelli Viviane y J. Folco Eduardo.** Inflammatory Concepts of Obesity. Int J. Inflam 2011; 2011:529061.
5. **Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al.** Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest 2004; 114(12):1752-61.

6. **Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sánchez L, García-Almeida JM, García-Serrano S, García-Arnés J, et al.** Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity* 2008; 17,240–246.
7. **Jones DP.** Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 295(4):C849-C868.
8. **Vekic J, Kotur-Stevuljevic J, Jelic-Ivanovic Z, Spasic S, Spasojevic Kalimanovska V, Topic A, et al.** Association of oxidative stress and PON1 with LDL and HDL particle size in middle-aged subjects. *Eur J Clin Invest* 2007; 37(9):715-23.
9. **Montes-Cortes DH, Hicks JJ, Ceballos-Reyes GM, Garcia-Sanchez JR, Medina-Navarro R, Olivares-Corichi IM.** Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation with blob from diabetic patients in oxidative stress. *Metabolism* 2010; 59(7):935-42.
10. **Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A, et al.** The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus Micro- and Macrovascular Complications: Avenues for a Mechanistic-Based Therapeutic Approach. *Curr Diabetes Rev* 2011; 15.
11. **Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R.** Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol* 2008; 23(3):381-90.
12. **Kirkham P, Rahman I.** Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther.* 2006, 111(2): 476-494.

13. Clark TA, Lee HP, Rolston RK, Zhu X, Marlatt MW, Castellani RJ, et al. Oxidative Stress and its Implications for Future Treatments and Management of Alzheimer Disease. *Int J Biomed Sci* 2010; 6(3):225-227.
14. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160(1):1-40.
15. Zadák Z, Hyspler R, Tichá A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol. Res* 2009; 58 Suppl 1:S13-7.
16. Hen K, Bogdański P, Szulińska M, Jabłecka A, Pupek-Musialik D. Influence of regular physical activity on oxidative stress in women with simple obesity. *Pol Merkur Lekarski*. 2010; 28(166):284-8.
17. Kim ES, Im JA, Kim KC, Park JH, Suh SH, Kang ES et al. Improved insulin sensitivity and adiponectin level after exercise training in obese Korean youth. *Obesity* 2007; 15(12):3023-30.
18. Bruun JM, Helge JW, Richelsen B, Stallknecht B. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E961–E967.
19. Ozcelik O, Ozkan Y, Karatas F, Kelestimur H. Exercise training as an adjunct to orlistat therapy reduces oxidative stress in obese subjects. *Tohoku J Exp Med*. 2005; 206(4):313-8.

20. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, Meloun M, Rousar T. Oxidative stress and metabolic syndrome in obese adults with and without controlled diet restriction. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(3):152-7.
21. Vincent HK, Bourguignon CM, Vincent KR, Weltman AL, Bryant M, Taylor AG. Antioxidant supplementation lowers exercise-induced oxidative stress in young overweight adults. *Obesity* 2006; 14(12):2224-35.
22. Uzun H, Konukoglu D, Gelisgen R, Zengin K, Taskin M. Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients *Obes Surg* 2007. 17(10):1367-73.
23. Harris JA, Benedict FG. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1918;4(12):370-3.
24. Karvonen MJ, Kentala E, Mustala O. The effects of training on heart rate; a longitudinal study. *Ann Med Exp Biol Fenn* 1957; 35(3):307-15.
25. Yagi K. Sample procedure for specific assay of lipid hydroperoxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol* 1998; 108:107-110.
26. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzimol* 1994; 233:357-363.
27. Heinecke JW, Li W, Daehnke III HL, et al. Dityrosine, a specific marker of oxidation, is synthesized the myeloperoxidase-hydrogen peroxide system of human neutrophils and macrophages. *J Biol Chem* 1993;268:4069-77
28. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.

29. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, Meloun M, Rousar T. Oxidative stress and metabolic syndrome in obese adults with and without controlled diet restriction. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(3):152-7.
30. Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 2010; 44(10):1125-71.
31. Lwow F, Dunajska K, Milewicz A, Jedrzejuk D, Kik K, Szmigiero L. Effect of moderate-intensity exercise on oxidative stress indices in metabolically healthy obese and metabolically unhealthy obese phenotypes in postmenopausal women: a pilot study. *Menopause* 2011; 18(6):646-53.
32. Reitman A, Friedrich I, Ben-Amotz A, Levy Y. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. *Isr Med Assoc J* 2002; 4(8):590-3.
33. Labayen I, Diez N, Parra MD, González A, Martínez JA. Time-course changes in macronutrient metabolism induced by a nutritionally balanced low-calorie diet in obese women. *Int J Food Sci Nutr* 2004; 55(1):27-35.
34. Zhu S, Wang Z, Heshka S, Heo M, Faith MS, Heymsfield SB. Waist circumference and obesity-associated risk factors among whites in the third National Health and Nutrition Examination Survey: clinical action thresholds. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(4):743-9.

Tabla 1. Parámetros antropométricos de los grupos en estudio.

Parámetros antropométricos	NP (N=30)	O1 (N=30)
Edad (a)	25.6 ± 1.4	36.72±8.94
Talla (m)	1.57 ±0.05	1.58±0.06
Peso (Kg)	54.7 ± 1.7	82.08±8.97 *
IMC (Kg/m²)	21.4 ± 0.4	32.83±2.82 *
Grasa corporal (%)	22 ± 3.22	40.44±1.76 *
Cintura (cm)	79 ±4.52	95.88±7.22 *
Cadera (cm)	93 ±3.71	112.40±8.40 *
Índice cintura/cadera	0.83± 0.03	0.85±0.06 *

Los resultados son expresados como medias ± DS y fueron analizados utilizando la prueba de *t* de student **p*<0.0001 NP vs O1.

Tabla 2. Valores de biomarcadores de estrés oxidativo en plasma en los grupos de estudio.

Parámetros	NP (N=30)	O1 (N=30)
MDA (μM)	7.08 ± 0.8	13.74 ± 1.2
Carbonilos (nmoles de osazona/mg de proteína)	0.65 ± 0.04	0.89 ± 0.04
Ditirosinas (URF/mg de proteína)	126.3 ± 12.6	478.9 ± 27.4

Los resultados son expresados como medias \pm DS, analizados mediante la prueba de *t* de student * $p < 0.0001$ NP vs O1.

Tabla 3. Parámetros antropométricos antes y después de los tratamientos.

Parámetro	Dieta (n=10)			Dieta / Ejercicio (n=10)			Dieta / Ejercicio / Antioxidantes (n=10)		
	0 d	90 d	p	0 d	90 d	p	0 d	90 d	p
Peso (Kg)	82.7 ± 8.1	76.8 ± 6.9	< 0.01	81.9 ± 9.4	75.1 ± 8.6	< 0.01	82.7 ± 8.1	76.8 ± 6.9	< 0.01
IMC (Kg/m ²)	32.6 ± 2.9	30.3 ± 2.7	< 0.01	32.6 ± 2.9	30.05 ± 3.15	< 0.01	32.0 ± 1.9	29.7 ± 2.7	< 0.01
% de grasa	40.6 ± 1.9	35.3 ± 2.9	< 0.01	39.5 ± 1.08	35.3 ± 1.8	< 0.01	40.3 ± 1.42	36.5 ± 2.5	< 0.01
Cintura (cm)	96.6 ± 6.7	89.2 ± 6.1	< 0.01	94.9 ± 8.7	88.6 ± 9.2	< 0.01	92.6 ± 6.09	86.5 ± 6.9	< 0.01
Cadera (cm)	112.5 ± 8.6	106.4 ± 6.5	< 0.01	111.1 ± 7.03	106.3 ± 7.1	< 0.01	112.9 ± 7.5	106.4 ± 8.2	< 0.01
ICC	0.86 ± 0.05	0.83 ± 0.04	< 0.01	0.85 ± 0.05	0.82 ± 0.05	< 0.01	0.81 ± 0.07	0.79 ± 0.07	< 0.01
Edad (años)	35.46	35.46	----	40.2	40.2	----	38.9	38.9	----
Estatura (m)	1.58	1.58	----	1.57	1.57	----	1.57	1.57	----

Los valores son expresados como medias ± DS; analizados con la prueba de *t* pareada por grupo. **p*<0.01 0d vs 90d.

Figura 1

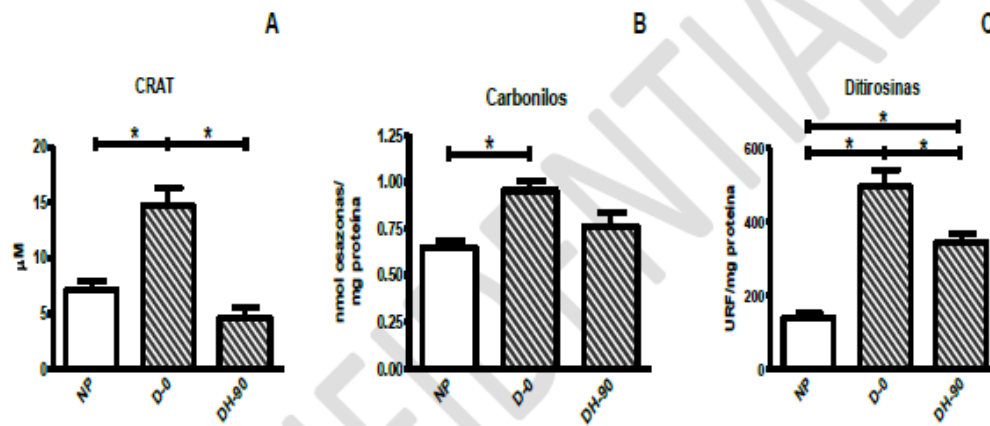
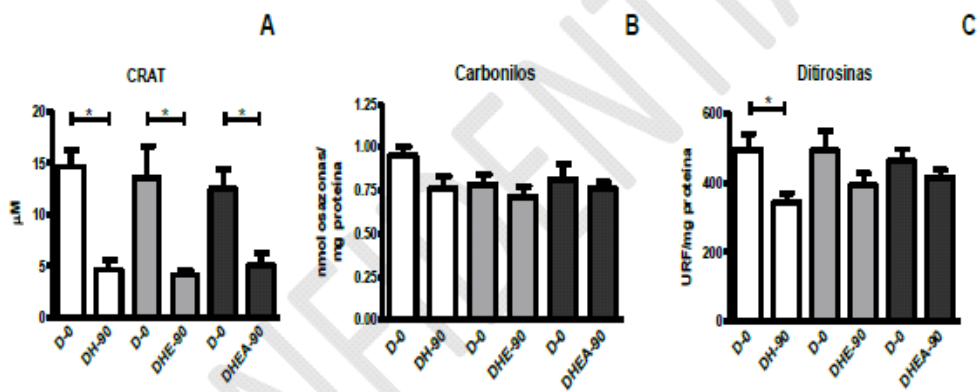


Figura 2



Pies de figuras.

Figura 1. Valores de marcadores de estrés oxidativo en plasma. Normopeso (NP), obesos antes del tratamiento (D-0) y obesos tratados con una dieta hipocalórica por 90 días (DH-90). A) Compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT), B) Grupos carbonilo y C) Ditirosinas. * $p < 0.001$. Los valores son expresados con medias \pm DS, analizados con ANOVA y prueba *pos-hoc* Bonferroni.

Figura 2. Valores de marcadores de estrés oxidativo en plasma antes y después de los tratamientos en estudio. Antes del tratamiento (D0), dieta hipocalórica (DH), dieta hipocalórica y ejercicio (DHE), dieta hipocalórica, ejercicio y antioxidantes (DHEA). A) Compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT), B) Grupos carbonilo y C) Ditirosinas. * $p < 0.001$. Los valores son expresados en medias \pm DS, analizados con ANOVA y prueba *pos hoc* Bonferroni.

Gaceta médica de México

Author(s): Academia de Medicina de México (1873-1887).
 Academia Nacional de Medicina de México.
 Sociedad de Medicina, Mexico.

NLM Title Abbreviation: Gac Med Mex

ISO Abbreviation: Gac Med Mex

Title(s): Gaceta médica de México.

Other Title(s): Gac. med. Mexico

Publication Start Year: 1864

Frequency: Bimonthly

Country of Publication: Mexico

Publisher: México.

Latest Publisher: México : Academia Nacional De Medicina

Description: v. illus., ports.

Language: Spanish

ISSN: 0016-3813 (Print)

0016-3813 (Linking)

Acid-Free: No

Coden: GMMEAK

Fully Indexed In: Index medicus v94n4,Apr. 1964-
 MEDLINE v94n4,Apr. 1964-
 PubMed v94n4,Apr. 1964-

Indexed In: OLDMEDLINE

Current Indexing Status: Currently indexed for MEDLINE.

Indexed In: OLDMEDLINE

Current Indexing Status: Currently indexed for MEDLINE.

Current Subset: Index Medicus

Version Indexed: Print

MeSH: Medicine*

Publication Type(s): Periodicals

Notes: Issued 1874-1905 with title: Gaceta médica.

Index for t. 1-86, 1864-1956, included in Bibliografía general de la Academia Nacional de Medicina (1836-1956) by Francisco Fernandez del Castillo.

Issues for 1901-05, called ser. 2, t. 1-5, but constitute t. 38-42; 1906-18: ser. 3, t. 1-11, but constitute t. 43-53; 1919-24?, called also ser. 4.

Vol. 130, no. 4 has incorrect months May/June 1994 but constitutes July./Aug. 1994.

Vol. 130, no. 3 in 1994 ends with p. 177; v. 130, no. 4 in 1994 begins with p. 201.

Microfilm. v. 1 (1864)-55 (1920). 28 microfilm reels : negative ; 35 mm.

Some summaries in English.

Organ of the Sociedad de Medicina, Mexico, 1864-1 jun. 1871; Academia de Medicina de México, 15 jun. 1871-1 jul. 1887; Academia Nacional de Medicina de México, 15 jul. 1887-

Other ID: (DNLM)G00380000(s)
 (OCoLC)01570372

NLM ID: 0010333 [Serial]



SCImago
Journal & Country
Rank

EST MODUS IN REBUS

Horatio (Satire 1,1,106)

Home

Journal Rankings

Journal Search

Country Rankings

Country Search

Compare

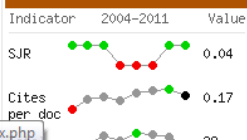
Map Generator

Help

About Us

Show this information in
your own website

Gaceta Medica de Mexico



Journal Search

Search query

in Journal Title Search

☐ Exact phrase

Gaceta Medica de Mexico

Country: [Venezuela](#)

Subject Area: [Medicine](#)

Subject Category: [Medicine \(miscellaneous\)](#) Q2

Publisher: [Academia Nacional de Medicina](#). Publication type: Journals. ISSN: 00163813

Coverage: 1948, 1950-2010

H Index: 11

Scope:

La Gaceta Médica de México (ISSN 00163813), es una publicación bimestral. Es el órgano oficial de la Academia Nacional de [...] [Show full scope](#)

Charts

Data



How to cite this website?

SJR is developed by:

SCIMAGO
L A B

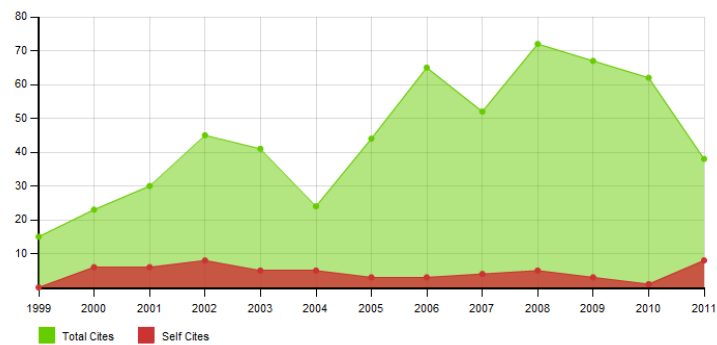
Powered by
SCOPUS™

SJR indicator vs. Cites per Doc (2y)



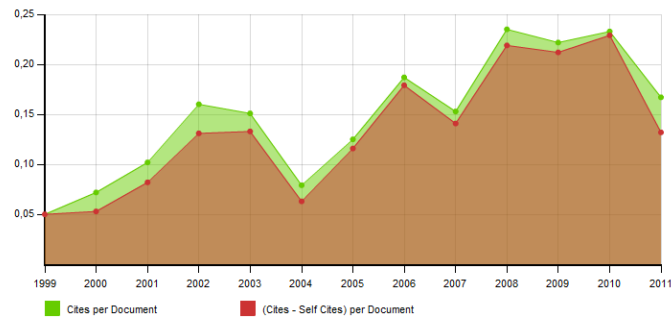
The SJR indicator measures the scientific influence of the average article in a journal, it expresses how central to the global scientific discussion an average article of the journal is. Cites per Doc. (2y) measures the scientific impact of an average article published in the journal, it is computed using the same formula that journal impact factor™ (Thomson Reuters).

Citation vs. Self-Citation



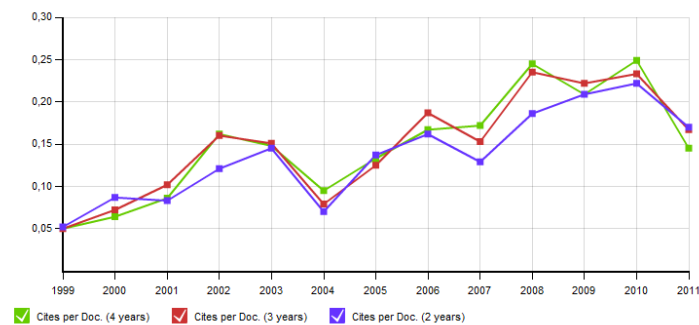
Evolution of the total number of citations and journal's self-citations received by a journal's published documents during the three previous years.

Cites per Document vs. External Cites per Document



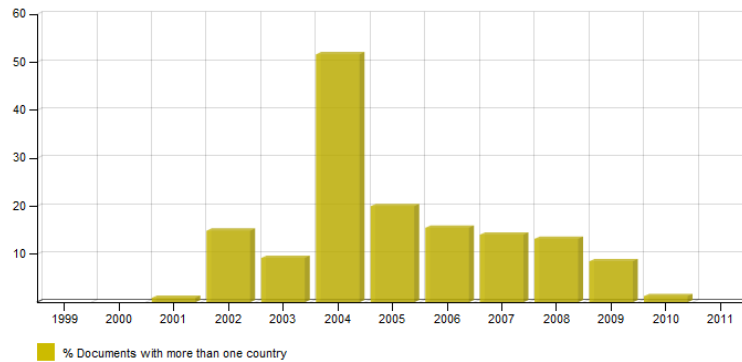
Evolution of the number of total cites per document and external cites per document (i.e. journal self-citations removed) received by a journal's published documents during the three previous years.

Cites per Document in 2, 3 and 4 years windows



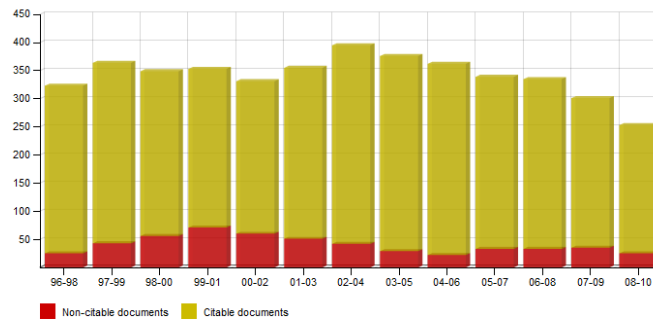
Evolution of Citations per Document to a journal's published documents during the two, three and four previous years. The two years line is equivalent to journal impact factor TM (Thomson Reuters) metric.

International Collaboration



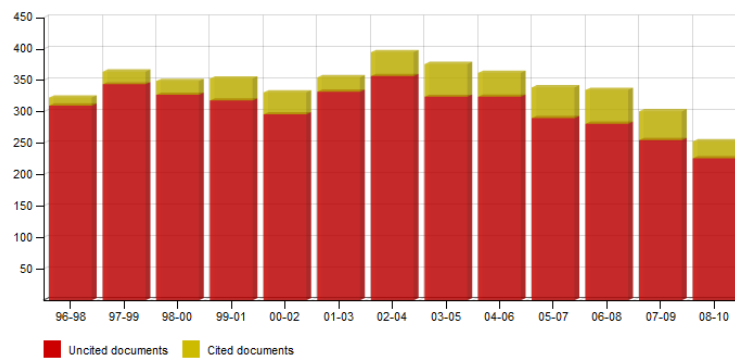
International Collaboration accounts for the articles that have been produced by researchers from several countries. The chart shows the ratio of a journal's documents signed by researchers from more than one country.

Journal's Citable vs. Non Citable Documents



Not every article in a journal is considered primary research and therefore "citable", this chart shows the ratio of a journal's articles including substantial research (research articles, conference papers and reviews) in three year windows.

Journal's Cited vs. Uncited Documents



Ratio of a journal's items, grouped in three years windows, that have been cited at least once vs. those not cited during the following year.